

UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ

ANGELO PERUFFO RODRIGUES

ARMAZENAMENTO A 5 °C DE *Cleruchoides noackae* (HYMENOPTERA:
MYMARIDAE) E DE SEU HOSPEDEIRO *Thaumastocoris peregrinus*
(HEMIPTERA: THAUMASTOCORIDAE)

CURITIBA

2017

ANGELO PERUFFO RODRIGUES

ARMAZENAMENTO A 5 °C DE *Cleruchoides noackae* (HYMENOPTERA:
MYMARIDAE) E DE SEU HOSPEDEIRO *Thaumastocoris peregrinus*
(HEMIPTERA: THAUMASTOCORIDAE)

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Agronomia, Área de Concentração em Produção Vegetal, Departamento de Fitotecnia e Fitossanitarismo, Setor de Ciências Agrárias, Universidade Federal do Paraná, como parte das exigências para obtenção do título de Mestre em Ciências.

Orientador: Luis Amilton Foerster

Co-orientador: Leonardo Rodrigues Barbosa

CURITIBA

2017

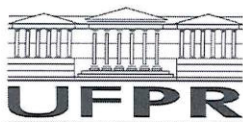
FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELO SISTEMA DE BIBLIOTECAS/UFPR -
BIBLIOTECA DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS, DOUGLAS ALEX JANKOSKI CRB 9/1167
COM OS DADOS FORNECIDOS PELO(A) AUTOR(A)

R896a Rodrigues, Angelo Peruffo
Armazenamento a 5 °C de *Cleruchoides Noackae*
(Hymenoptera: Mymaridae) e de seu hospedeiro *Thaumastocoris*
peregrinus (Hemiptera: Thaumastocoridae) / Angelo Peruffo
Rodrigues. - Curitiba, 2017.
68 f.: grafs., tabs.

Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal do Paraná.
Setor de Ciências Agrárias, Programa de Pós-Graduação em
Agronomia - (Produção Vegetal).
Orientador: Luis Amilton Foerster
Coorientador: Leonardo Rodrigues Barbosa

1. Pragas - Controle biológico. 2. Parasitoide – Controle
biológico. 3. Percevejo (Inseto). 4. Hemiptera. I. Foerster, Luis
Amilton. II. Barbosa, Leonardo Rodrigues. III. Título. VI.
Universidade Federal do Paraná.

CDU 632.937



MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
Setor CIÊNCIAS AGRÁRIAS
Programa de Pós-Graduação AGRONOMIA (PRODUÇÃO VEGETAL)

TERMO DE APROVAÇÃO

Os membros da Banca Examinadora designada pelo Colegiado do Programa de Pós-Graduação em AGRONOMIA (PRODUÇÃO VEGETAL) da Universidade Federal do Paraná foram convocados para realizar a arguição da Dissertação de Mestrado de **ANGELO PERUFFO RODRIGUES** intitulada: "**ARMAZENAMENTO A 5 °C DE *Cleruchoides noackae* (HYMENOPTERA: MYMARIDAE) E DE SEU HOSPEDEIRO *Thaumastocoris peregrinus* (HEMIPTERA: THAUMASTOCORIDAE)**", após terem inquirido o aluno e realizado a avaliação do trabalho, são de parecer pela sua **APROVAÇÃO** no rito de defesa.

A outorga do título de mestre está sujeita à homologação pelo colegiado, ao atendimento de todas as indicações e correções solicitadas pela banca e ao pleno atendimento das demandas regimentais do Programa de Pós-Graduação.

Curitiba, 11 de Agosto de 2017.

LUÍS AMILTON FOERSTER

Presidente da Banca Examinadora (UFPR)

LEONARDO RODRIGUES BARBOSA

Avaliador Externo (EMBRAPA)

ALEX SANDRO POLTRONIERI

Avaliador Externo (UFPR)

MARION DO RÓCIO FOERSTER

Avaliador Externo (UFPR)

AGRADECIMENTOS

À Universidade Federal do Paraná pela formação acadêmica. Ao programa de Pós Graduação em Produção Vegetal da UFPR.

À Embrapa Florestas pela oportunidade de desenvolvimento do projeto.

Ao professor Dr. Luis A. Foerster pela orientação e confiança durante os anos de graduação e pós graduação e por ser fonte de inspiração para continuar estudando e pesquisando.

Ao pesquisador Dr. Leonardo Rodrigues Barbosa pela confiança, orientação durante os anos de estágio e mestrado como Co-Orientador, sempre incentivando a buscar mais, pelos conselhos profissionais pessoais.

Aos estagiários e amigos Elaine, Estela, Lana, Bianca pela ajuda fundamental na elaboração e avaliação dos experimentos.

À turma Etanóis, do primeiro semestre de 2010, pelas amizades formadas e bons momentos vividos.

Aos meus pais Elaini e Carlos e tios Maria e Carlos pelo amor, carinho, paciência, educação, respeito e incentivos essenciais na minha formação pessoal, profissional e por sempre estarem ao meu lado em todos os momentos dessa longa jornada.

À minha esposa Renata por estar sempre ao meu lado nos momentos mais difíceis e também os mais alegres. Pelo amor, carinho, motivação, companheirismo, respeito, dedicação, conselhos e por fazer os dias serem melhores com seu sorriso e empolgação.

Aos meus irmãos Augusto e Bruno pela parceria de toda essa vida, sempre com bons momentos e principalmente boas conversas.

Aos amigos de infância Lucas, Carlos, Henrique, Renan e Emilio pela sincera amizade.

Aos amigos e colegas do laboratório de Ecofisiologia Vegetal da UFPR.

Aos todos os familiares e amigos que de alguma forma me ajudaram a ser uma pessoa melhor e contribuíram para o meu crescimento pessoal e profissional durante essa jornada.

Ao Instituto de Pesquisa e Estudos Florestais pela participação de reuniões, apresentações e concessão da bolsa o que permitiu o desenvolvimento deste trabalho.

RESUMO

O objetivo do estudo foi avaliar o efeito do armazenamento de ovos de *Thaumastocoris peregrinus*, importante praga do eucalipto e da fase jovem do parasitoide de ovos *Cleruchoides noackae* à temperatura de 5 °C. A dissertação foi dividida em dois capítulos; o primeiro trata do armazenamento a 5 °C de ovos de *T. peregrinus* com o objetivo de aumentar a quantidade de ovos do hospedeiro para a criação massal de *C. noackae*. Avaliou-se o efeito do armazenamento de ovos de *T. peregrinus* durante 0, 15, 30, 45 e 60 dias no parasitismo de *C. noackae*. O melhor período de armazenamento (15 dias) foi utilizado para criar *C. noackae* por 5 gerações seguidas buscando verificar o efeito do armazenamento dos ovos no desenvolvimento e reprodução do parasitoide. No segundo capítulo avaliou-se o efeito do armazenamento a 5 °C da fase jovem do parasitoide após 0, 3, 6, 9 e 12 dias do parasitismo em ovos de *T. peregrinus*. O resultado mais satisfatório (6 dias) foi utilizado para armazenar a 5 °C o parasitoide por 0, 7, 14 e 21 dias a fim de verificar o efeito do armazenamento da fase jovem do parasitoide. O armazenamento a 5 °C de ovos de *T. peregrinus* é viável durante 15 dias e a oferta desses ovos por cinco gerações seguidas não afetou as características de desenvolvimento e reprodutivas do parasitoide. O melhor período para o armazenamento da fase jovem de *C. noackae* é 6 dias após o parasitismo do hospedeiro, sendo que nessas condições o armazenamento é viável por até 7 dias a 5 °C. Conclui-se que o armazenamento de ovos de *T. peregrinus* e da fase jovem do parasitoide são alternativas viáveis para otimizar a criação massal de *C. noackae*.

PALAVRAS-CHAVE: Controle biológico; parasitoide de ovos; percevejo bronzeado; eucalipto; armazenamento de parasitoide;

ABSTRACT

The aim of this study was to evaluate the storage of *Thaumastocoris peregrinus* eggs important plague of eucalyptus culture and the immature phase of the egg parasitoid *Cleruchoides noackae*. The dissertation was divided into two chapters. The first one assessed the storage of *T. peregrinus* eggs at 5 °C with the objective to increase the quantity of host eggs supply for a mass rearing of *C. noackae*. The effect of *T. peregrinus* egg stored for 0, 15, 30, 45 and 60 days in the parasitism of *C. noackae*. The best storage period (15 days) was used to create *C. noackae* for 5 consecutive generations to estimate the effect of the stored egg on the development and reproduction of the parasitoid. In the second chapter, the effect of storage at 5 °C on the immature phase of the parasitoid at periods 0, 3, 6, 9 and 12 days after parasitism on *T. peregrinus* eggs was evaluated. The most satisfactory result (6 days) was used to store the parasitoid for 0, 7, 14 and 21 days. The results showed that the storage at 5 °C of *T. peregrinus* eggs is viable for 15 days and the offer of this eggs for five consecutive generations did not affect the developmental and reproductive characteristics of the parasitoid. The ideal storage period for the immature phase of *C. noackae* is six days after parasitism of the host, and under these conditions, the storage is viable for up to seven days at 5 °C. It is concluded that the storage of *T. peregrinus* eggs and of the immature phase of the parasitoid are viable alternatives to optimize the mass rearing of *C. noackae*.

KEY WORDS: Biological control; egg parasitoid; bronze bug; eucalyptus; parasitoid storage;

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1.** Parasitismo (A, C), emergência (B, D) (média \pm 95% intervalo de confiança) das gerações F1 e F2 de *Cleruchoides noackae* (Hymenoptera: Mymaridae) em ovos de *Thaumastocoris peregrinus* (Hemiptera: Thaumastocoridae) armazenados a 5 ± 2 °C. Barras com letras diferentes, por parâmetro, diferem pelo teste de Tukey ($P < 0,05$). 33
- Figura 2.** Parasitismo (A), emergência (B) e razão sexual (C) (média \pm 95% intervalo de confiança) de *Cleruchoides noackae* (Hymenoptera: Mymaridae) criado com ovos de *Thaumastocoris peregrinus* (Hemiptera: Thaumastocoridae) com 24 h (10^a) e por cinco gerações em ovos armazenados por 15 dias (11^a à 15^a) (24 ± 2 °C, UR 60% e fotofase de 12 horas). 36
- Figura 3.** Emergência (média \pm 95% intervalo de confiança) de *Cleruchoides noackae* (Hymenoptera: Mymaridae) em ovos de *Thaumastocoris peregrinus* (Hemiptera: Thaumastocoridae) armazenados a 5 ± 2 °C seis dias após o parasitismo. Barras com letras diferentes, por parâmetro, diferem pelo teste de Tukey ($P < 0,05$). 52

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Adultos retidos (Ret.), razão sexual (RS.), período de desenvolvimento (ovo – adulto) (Per.) (24 ± 2 °C, UR 60% e fotofase 12 h) da geração F1 de <i>Cleruchoides noackae</i> (Hymenoptera: Mymaridae) (Média \pm EP) em relação aos períodos de armazenamento de ovos do hospedeiro <i>Thaumastocoris peregrinus</i> (Hemiptera: Thaumastocoridae) a 5 ± 2 °C.....	34
Tabela 2. Ovos inviáveis (OV) e ninfas (Nin.) (Média \pm EP) de <i>Thaumastocoris peregrinus</i> (Hemiptera: Thaumastocoridae) em relação aos períodos de armazenamento de seus ovos a 5 ± 2 °C da geração F1 de <i>Cleruchoides noackae</i> (Hymenoptera: Mymaridae) (24 ± 2 °C, UR 60% e fotofase 12 h). ...	34
Tabela 3. Adultos retidos (Ret.), razão sexual (RS.), período de desenvolvimento (ovo – adulto) (Per.) (24 ± 2 °C, UR 60% e fotofase 12 h) da geração F2 de <i>Cleruchoides noackae</i> (Hymenoptera: Mymaridae) (Média \pm EP) em relação aos períodos de armazenamento de ovos do hospedeiro <i>Thaumastocoris peregrinus</i> (Hemiptera: Thaumastocoridae) a 5 ± 2 °C.....	35
Tabela 4. Ovos inviáveis (OV) e ninfas (Nin.) (Média \pm EP) de <i>Thaumastocoris peregrinus</i> (Hemiptera: Thaumastocoridae) em relação aos períodos de armazenamento de seus ovos a 5 ± 2 °C na geração F2 de <i>Cleruchoides noackae</i> (Hymenoptera: Mymaridae) (24 ± 2 °C, UR 60% e fotofase 12 h). ...	35
Tabela 5. Adultos retidos (Ret.) e período de desenvolvimento (ovo – adulto) (Per.) (24 ± 2 °C, UR 60% e fotofase 12 h) do controle (ovo fresco) e das 5 gerações de <i>Cleruchoides noackae</i> (Hymenoptera: Mymaridae) (Média \pm EP) criadas utilizando ovos de <i>Thaumastocoris peregrinus</i> (Hemiptera: Thaumastocoridae) armazenados por 15 dias a 5 ± 2 °C.	36
Tabela 6. Adultos retidos (Ret.), emergência (Emer.) e razão sexual (RS.) da geração F1 de <i>Cleruchoides noackae</i> (Hymenoptera: Mymaridae) (Média \pm EP) armazenados em diferentes períodos de desenvolvimento da fase jovem em ovos de <i>Thaumastocoris peregrinus</i> (Hemiptera: Thaumastocoridae) a 5 ± 2 °C.	50
Tabela 7. Adultos retidos (Ret.), emergência (Emer.), parasitismo (Par.), razão sexual (RS.), período de desenvolvimento (ovo – adulto) (Per.) (24 ± 2 °C, UR 60% e fotofase 12 h) da geração F2 de <i>Cleruchoides noackae</i> (Hymenoptera:	

Mymaridae) (Média \pm EP) em relação ao armazenamento em diferentes períodos de desenvolvimento da fase jovem em ovos de *Thaumastocoris peregrinus* (Hemiptera: Thaumastocoridae) a 5 ± 2 °C. 51

Tabela 8. Adultos retidos (Ret.), razão sexual (RS.) e emergência após o armazenamento (EAA) (24 ± 2 °C, UR 60% e fotofase 12 h) da geração F1 de *Cleruchoides noackae* (Hymenoptera: Mymaridae) (Média \pm EP) em relação ao armazenamento por diferentes períodos 6 dias após o parasitismo em ovos de *Thaumastocoris peregrinus* (Hemiptera: Thaumastocoridae) a 5 ± 2 °C..... 52

Tabela 9. Adultos retidos (Ret.), emergência (Emer.), parasitismo (Par.), razão sexual (RS.), período de desenvolvimento (ovo – adulto) (Per.) (24 ± 2 °C, UR 60% e fotofase 12 h) da geração F2 de *Cleruchoides noackae* (Hymenoptera: Mymaridae) (Média \pm EP) em relação a diferentes períodos de armazenamento 6 dias após o parasitismo em ovos de *Thaumastocoris peregrinus* (Hemiptera: Thaumastocoridae) a 5 ± 2 °C..... 53

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO GERAL.....	15
2	REVISÃO DE LITERATURA	16
2.1	<i>Thaumastocoris peregrinus</i>	16
2.2	<i>Cleruchoides noackae</i>	18
2.3	ARMAZENAMENTO DO HOSPEDEIRO EM BAIXAS TEMPERATURAS	19
2.4	ARMAZENAMENTO DA FASE JOVEM DO PARASITOIDE	20
	REFERÊNCIAS.....	21
3	CAPÍTULO I - ARMAZENAMENTO EM BAIXA TEMPERATURA DE OVOS DE <i>Thaumastocoris peregrinus</i> CARPINTEIRO E DELLAPÉ (HEMIPTERA: THAUMASTOCORIDAE) PARA CRIAÇÃO MASSAL DE <i>Cleruchoides noackae</i> LIN E HUBER (HYMENOPTERA: MYMARIDAE)	26
	RESUMO	26
	ABSTRACT	27
3.1	INTRODUÇÃO	28
3.2	MATERIAL E MÉTODOS.....	29
3.2.1	CRIAÇÃO MASSAL DE <i>T. peregrinus</i>	29
3.2.2	CRIAÇÃO MASSAL DE <i>C. noackae</i>	30
3.2.3	PARASITISMO DE <i>C. noackae</i> EM OVOS DE <i>T. peregrinus</i> ARMAZENADOS A 5°C.....	30
3.2.4	CRIAÇÃO DE <i>C. noackae</i> POR CINCO GERAÇÕES UTILIZANDO OVOS DE <i>T. peregrinus</i> ARMAZENADOS A 5 °C.	31
3.2.5	PARÂMETROS AVALIADOS	31
3.2.6	ANÁLISE ESTATÍSTICA	32
3.3	RESULTADOS.....	32

3.3.1	PARASITISMO DE <i>C. noackae</i> EM OVOS DE <i>T. peregrinus</i> ARMAZENADOS A 5 °C.....	32
3.3.2	CRIAÇÃO DE <i>C. noackae</i> POR CINCO GERAÇÕES UTILIZANDO OVOS DE <i>T. peregrinus</i> ARMAZENADOS A 5 °C	35
3.4.	DISCUSSÃO	37
3.4.1	PARASITISMO DE <i>C. noackae</i> EM OVOS DE <i>T. peregrinus</i> ARMAZENADOS A 5 °C.....	37
3.4.2	CRIAÇÃO DE <i>C. noackae</i> POR CINCO GERAÇÕES UTILIZANDO OVOS DE <i>T. peregrinus</i> ARMAZENADOS A 5 °C.	38
3.5	CONCLUSÕES	39
4	CAPÍTULO II - ARMAZENAMENTO EM DIFERENTES PERÍODOS DE <i>Cleruchoides noackae</i> LIN E HUBER (HYMENOPTERA: MYMARIDAE) EM OVOS DE <i>Thaumastocoris peregrinus</i> CARPINTEIRO E DELLAPÉ (HEMIPTERA: THAUMASTOCORIDAE) A 5°C	43
	RESUMO	43
	ABSTRACT	44
4.1	INTRODUÇÃO	45
4.2	MATERIAL E MÉTODOS	46
4.2.1	CRIAÇÃO MASSAL DE <i>T. peregrinus</i>	46
4.2.2	CRIAÇÃO MASSAL DE <i>C. noackae</i>	47
4.2.3	ARMAZENAMENTO A 5 °C DE DIFERENTES FASES DE DESENVOLVIMENTO DE <i>C. noackae</i>	47
4.2.4	PARÂMETROS AVALIADOS	48
4.2.5	ARMAZENAMENTO DE <i>C. noackae</i> A 5°C POR DIFERENTES PERÍODOS.....	48
4.2.6	PARÂMETROS AVALIADOS	49
4.2.7	ANÁLISE ESTATÍSTICA	49
4.3	RESULTADOS	50

4.3.1	ARMAZENAMENTO A 5°C DE DIFERENTES FASES DE DESENVOLVIMENTO DE <i>C. noackae</i>	50
4.3.2	ARMAZENAMENTO A 5°C DE <i>C. noackae</i> POR DIFERENTES PERÍODOS.....	51
4.4	DISCUSSÃO	53
4.4.1	ARMAZENAMENTO A 5°C DE DIFERENTES FASES DE DESENVOLVIMENTO DE <i>C. noackae</i>	53
4.4.2	ARMAZENAMENTO DE <i>C. noackae</i> A 5°C POR DIFERENTES PERÍODOS.....	54
4.5	CONCLUSÕES	56
	REFERÊNCIAS	56

1. INTRODUÇÃO GERAL

O percevejo bronzeado, *Thaumastocoris peregrinus* Carpinteiro e Dellapé (Heteroptera: Thaumastocoridae), de origem australiana, é uma das principais pragas da cultura do eucalipto (MARTÍNEZ et al., 2014). O gênero *Eucalyptus* ocupa grandes áreas de cultivo no Brasil o que facilitou a disseminação da praga que apresenta altas taxas de reprodução e colonização (JACOBS; NESER, 2005; BARBOSA et al., 2017) sendo atualmente detectada em praticamente todo o território.

A principal alternativa de controle de *T. peregrinus* é o controle biológico, com a utilização do parasitoide solitário de ovos *Cleruchoides noackae* Lin e Huber (Hymenoptera: Mymaridae) (NADEL; NOACK, 2012). Introduzido da Austrália em 2009, o parasitoide já foi liberado em campo e sua capacidade de reprodução e estabelecimento são comprovadas (BARBOSA et al., 2017).

Diferentemente dos produtos sintéticos, os inimigos naturais têm vida de prateleira curta por serem difíceis de armazenar devido ao seu curto ciclo de vida; porém necessita-se a oferta de grandes quantidades do parasitoide e do hospedeiro pouco tempo antes da liberação a campo (ST-ONGE et al., 2016). A criação de inimigos naturais e seus hospedeiros deve ocorrer de maneira conjunta com técnicas que aumentem sua oferta para suprir a demanda a campo durante a ocorrência da praga são essenciais em programas de controle biológico (LEOPOLD, 1998; PARRA, 2009; COLINET; BOIVIN, 2011).

Como alternativa para suprir essa demanda, a utilização de baixas temperaturas pode ser uma alternativa (BALLAL et al., 1989; WANG et al., 2014). Essa técnica possibilita o aumento da vida útil do hospedeiro, podendo suprir a demanda da criação massal dos parasitoides (PEVERIERI et al., 2015).

O armazenamento em baixas temperaturas é possível a partir da indução da dormência no inseto, período em que as atividades metabólicas são reduzidas, prolongando seu período de desenvolvimento (LEOPOLD, 1998). Contudo, o armazenamento do parasitoide, se ocorrer principalmente durante a

fase jovem, permite controlar sua emergência, mesmo que em curto período (BALLAL et al., 1989).

Devido à alta demanda de *C. noackae* para o controle do percevejo bronzeado em plantios comerciais de eucalipto no Brasil, relacionada a poucos estudos referentes a técnicas que otimizem a criação massal desse parasitoide, o presente estudo teve por objetivo avaliar o armazenamento de ovos de *T. peregrinus* e da fase jovem de *C. noackae*, a 5 °C em diferentes períodos de armazenamento, e seus efeitos no desenvolvimento e reprodução do parasitoide.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1 *Thaumastocoris peregrinus*

Nos últimos anos o setor florestal no Brasil tem crescido consideravelmente, atingindo aproximadamente 7,8 milhões de hectares de florestas plantadas. O gênero *Eucalyptus* é o mais representativo com 5,6 milhões de hectares, seguido do gênero *Pinus* com 1,6 milhões de hectares (KAKAR et al., 2017).

Apesar do destaque mundial, o setor florestal brasileiro enfrenta muitos entraves em relação à produtividade. O monocultivo composto por extensas áreas, muitas vezes contemplando pequenas variações de genótipos, contribui para o surgimento de surtos de pragas exóticas (SCHNELL et al., 2016).

O percevejo bronzeado, *Thaumastocoris peregrinus* Carpinteiro e Dellapé (Heteroptera: Thaumastocoridae) é uma das principais pragas do eucalipto no Brasil (MARTÍNEZ et al., 2014). Esse nome está atribuído ao seu hábito alimentar de sugar a seiva das folhas, preferencialmente mais velhas, causando primeiramente um prateamento que evolui para tons marrons e

vermelhos dando aspecto bronzeado às folhas (JACOBS; NESER, 2005; MARTÍNEZ et al., 2017).

O registro de *T. peregrinus* já foi confirmado em plantios comerciais de eucalipto, como São Paulo, Minas Gerais, Mato Grosso do Sul, Rio de Janeiro, Espírito Santo, Paraná, Santa Catarina e Goiás (WILCKEN et al., 2010; BARBOSA et al., 2010; PEREIRA et al., 2013).

O inseto apresenta alta taxa de reprodução, colonização e infestação, facilitando sua disseminação em extensas áreas de plantio, causando perdas significativas da área fotossintética podendo ocasionar a desfolha parcial ou total das plantas (JACOBS; NESSER, 2005).

O período de maior ocorrência da praga está relacionado com épocas de temperaturas elevadas e menor umidade relativa do ar. Nessas condições o período de desenvolvimento do inseto é reduzido possibilitando gerar um maior número de descendentes (NADEL et al., 2015).

Em ambiente controlado (a 22°C) observou-se que insetos adultos podem sobreviver por aproximadamente 40 dias, cada fêmea produz em média 60 ovos. A oviposição é realizada sobre injúrias da planta, com eclosão aproximadamente após 6 dias (MARTÍNEZ et al., 2017). A espécie apresenta cinco instares ninfais com duração de 4 a 5 dias para cada instar (NADEL; NOACK, 2012).

Devido ao uso de produtos químicos ser restritivo para aplicação em áreas extensivas, por causar impactos negativos ao meio ambiente e comprometer a certificação florestal, o controle biológico tem sido a principal estratégia utilizada para o controle de *T. peregrinus* (NADEL; NOACK, 2012).

Na busca por alternativas para o controle biológico de *T. peregrinus* diversos estudos foram realizados. Foram encontrados relatos do uso de fungos entomopatogênicos como *Beauveria bassiana* Vuill (Ascomycetes: Clavicipitaceae) (RIBEIRO, 2016) e *Zoophthora radicans* Brefeld (Entomophthorales: Entomophthoraceae) (MASCARIN et al., 2012) além de predadores nativos como *Chrysoperla externa* Hagen (Neuroptera: Chrysopidae) (BARBOSA et al., 2010), *Atopozelus opsimus* Elkins (Hemiptera:

Reduviidae) (DIAS et al., 2014) e *Supputius cincticeps* Stal (Hemiptera: Pentatomidae) (SOUZA et al., 2012). Porém nenhum destes organismos apresentaram resultados eficientes para o controle de *T. peregrinus*.

2.2 *Cleruchoides noackae*

O parasitoide de ovos *Cleruchoides noackae* Lin e Huber, 2007, (Hymenoptera: Mymaridae) nativo da Austrália é o principal agente de controle biológico do percevejo bronzeado (NADEL; NOACK, 2012). Importantes agentes em programas de controle biológico, os parasitoides apresentam alta especificidade em relação à praga alvo, possibilitando a supressão de sua população (YAN et al., 2017).

O parasitoide *C. noackae* é uma microvespa de aproximadamente 0,5 mm. Em condições controladas (25°C), sobrevive em média por 3,3 dias quando alimentados com solução de mel a 50% e 1,2 dias sem alimento (SOUZA et al., 2016). O período de desenvolvimento da fase jovem até a emergência é em média 15,7 dias e o parasitismo ocorre preferencialmente em ovos de *T. peregrinus* de até 3 dias de idade (MUTITU et al., 2013).

O tipo de reprodução de *C. noackae* é por partenogênese arrenótoca, no qual fêmeas copuladas originam machos e fêmeas e quando não copuladas originam apenas machos haploides (MUTITU et al., 2013).

Em condições controladas a porcentagem média de emergência de machos e de fêmeas são 53% e 69%, respectivamente. Resultados similares foram observados no campo com 51% de emergência e 65% de fêmeas o que confirmou a capacidade de reprodução e estabelecimento do parasitoide um ano após a liberação em campo (BARBOSA et al., 2017).

No entanto, para liberação a campo, é necessário uma grande quantidade de insetos a fim de suprir a demanda por parasitoides em períodos de ocorrência das pragas (COUDRON et al., 2007; ST-ONGE et al., 2014, 2016).

Assim, a utilização de técnicas que possibilitem a oferta de hospedeiros em quantidades suficientes, que forneçam flexibilidade e sincronismo na

criação dos parasitoides para suprir a demanda do mercado para liberação dos insetos a campo são essenciais (LEOPOLD, 1998; RUNDLE et al., 2004; TEZZE; BOTTO, 2004; PARRA, 2009; COLINET; BOIVIN, 2011).

2.3 ARMAZENAMENTO DO HOSPEDEIRO EM BAIXAS TEMPERATURAS

A utilização de baixas temperaturas para o armazenamento de ovos possibilita a oferta de hospedeiros para a produção de parasitoides durante todo o ano auxiliando na criação massal (WANG et al., 2014; ST-ONGE et al., 2016). Com o aumento da vida útil do hospedeiro, essa técnica permite a redução do desperdício de material biológico em momentos de superprodução (PEVERIERI et al., 2015).

A técnica de armazenamento a baixas temperaturas consiste na utilização de temperaturas não congelantes, que variam de 15 a 0 °C ou congelantes que variam de -1 até -196 °C (LEOPOLD, 1998; CHEN; LEOPOLD, 2007; IN et al., 2015; PEVERIERI et al., 2015; ST-ONGE et al., 2016).

Vários trabalhos que utilizaram ovos de hospedeiros armazenados em temperaturas não congelantes para criação de parasitoides são encontrados na literatura com resultados satisfatórios. *Trichogramma ostrinae* Peng e Chen (Hymenoptera: Trichogrammatidae) parasitou ovos de *Ephestia kuehniella* Zeller (Lepidoptera: Pyralidae) armazenados a 4 °C por 14 dias e com emergência superior a 70% (ST-ONGE et al., 2016). Este parasitoide apresentou a mesma porcentagem de emergência em ovos de *Corcyra cephalonica* Stainton (Lepidoptera: Pyralidae) armazenados a 8 °C durante 42 dias (JALALI et al., 2007).

A utilização de ovos do hospedeiro *Leptoglossus occidentalis* Heidemann (Heteroptera, Coreidae) armazenados a 4 °C por até 90 dias podem ser utilizados para criação massal de *Gryon pennsylvanicum* Ashmead (Hymenoptera, Platygastriidae) (PEVERIERI et al., 2015). Para *Gryon*

japonicum Ashmead (Hymenoptera, Platygasteridae) a utilização de ovos de *Riptortus pedestris* Fabricius (Hemiptera: Alydidae) armazenados a 2 °C por um mês não apresentou alteração na reprodução do parasitoide (ALIM; LIM, 2009).

2.4 ARMAZENAMENTO DA FASE JOVEM DO PARASITOIDE

O armazenamento de parasitoides é uma técnica importante para otimizar a criação, favorecendo a sincronização e o envio dos parasitoides a campo (BALLAL et al., 1989). No entanto, o momento exato para o armazenamento do parasitoide deve ser considerado (FOERSTER et al., 2004; ANWAR et al., 2016).

O armazenamento da fase jovem do parasitoide consiste na exposição de ovos hospedeiros parasitado a temperaturas não congelantes (LEOPOLD, 1998). A exposição do inseto a baixas temperaturas reduz as atividades metabólicas, induzindo o inseto ao estado de dormência, conhecido como quiescência. Após a retirada do inseto das condições de frio, o mesmo retorna seu desenvolvimento naturalmente (TAUBER et al., 1986; LEOPOLD, 1998).

O período em que o inseto reduz suas atividades metabólicas possibilita o aumento do ciclo da fase jovem do inseto. Para *Microplitis prodeniae* Viereck (Hymenoptera: Braconidae) o armazenamento a 10 °C em pupas de *Spodoptera litura* Fabricius (Lepidoptera: Noctuidae) proporcionou um aumento do período do ciclo juvenil em 10 dias, sem afetar as características de desenvolvimento e reprodução do parasitoide. Ao retirar os insetos da baixa temperatura, seu ciclo retornou ao normal e levou em média 4,6 dias para a emergência (YAN et al., 2017). As informações referentes ao período de armazenamento viável para o inseto e o período para que ocorra a emergência após o armazenamento são importantes para o planejamento da criação massal e sincronismo com a demanda dos insetos a campo.

O armazenamento da fase jovem do parasitoide deve ser realizado por curtos períodos para que não ocorram perdas no desempenho e reprodução dos insetos (COLINET; BOIVIN, 2011). Períodos mais prolongados de armazenamento não mostraram resultados satisfatórios em várias espécies, como: *Gonatocerus ashmeadi* Girault (Hymenoptera: Mymaridae), no qual a emergência do parasitoide reduziu de 90% para 70% após 30 dias de exposição a 4,5 °C (CHEN et al., 2008). O armazenamento de *Microplitis prodeniae* (Hymenoptera: Braconidae) por 15 dias a 10 °C reduziu a emergência de 90% para 78% (YAN et al., 2017). Para *Encarsia sophia* Girault e Dott (Hymenoptera: Aphelinidae) o armazenamento a 12 °C por duas semanas reduziu de 88% para 42% a emergência do parasitoide (KIDANE et al., 2015).

REFERÊNCIAS

- ALIM, M. A.; LIM, U. T. Refrigeration of *Riptortus clavatus* (Hemiptera: Alydidae) eggs for the parasitization by *Gryon japonicum* (Hymenoptera: Scelionidae). **Biocontrol Science and Technology**, v. 19, n. 3, p. 315–325, 2009.
- ANWAR, M.; UL ABDIN, Z.; ABBAS, S. K.; et al. Effect of cold storage on the survival, sex ratio and longevity of ectoparasitoid, *Bracon hebetor* (Say) (Hymenoptera: Braconidae). **Pakistan Journal of Zoology**, v. 48, n. 6, p. 1775–1780, 2016.
- BALLAL, C. R.; SINGH, S. P.; JALALI, S. K.; KUMAR, P. Cold tolerance of cocoons of *Allorhogas pyralophagus* [Hym.: Braconidae]. **Entomophaga**, v. 34, n. 4, p. 463–468, 1989.
- BARBOSA, L. R.; RODRIGUES, Â. P.; SOLER, L. DA S.; et al. Establishment in the field of *Cleruchoides noackae* (Hymenoptera: Mymaridae), an exotic egg parasitoid of *Thaumastocoris peregrinus* (Hemiptera: Thaumastocoridae). **Florida Entomologist**, v. 100, n. 2, p. 372–374, 2017.
- BARBOSA, L. R.; SANTOS, F.; BARDDAL, H. P.; MACHADO, B. O., WILCKEN, C. F.; SOLIMAN, E. P. **Predação de *Thaumastocoris peregrinus* por *Chrysoperla externa***. Comunicado técnico, Embrapa, 2010.

BARBOSA, L. R.; SANTOS, F.; WILCKEN, C. F.; SOLIMAN, E. P. Registro de *Thaumastocoris peregrinus* (Hemiptera, Thaumastocoridae) no Estado do Paraná. **Pesquisa Florestal Brasileira**, v. 30, n. 61, p. 75–77, 2010.

CHEN, W.-L.; LEOPOLD, R. A. Progeny quality of *Gonatocerus ashmeadi* (Hymenoptera: Mymaridae) reared on stored eggs of *Homalodisca coagulata* (Hemiptera: Cicadellidae). **Journal of Economic Entomology**, v. 100, n. 3, p. 685–694, 2007.

CHEN, W. L.; LEOPOLD, R. A.; HARRIS, M. O. Cold storage effects on maternal and progeny quality of *Gonatocerus ashmeadi* Girault (Hymenoptera: Mymaridae). **Biological Control**, v. 46, n. 2, p. 122–132, 2008.

COLINET, H.; BOIVIN, G. Insect parasitoids cold storage: A comprehensive review of factors of variability and consequences. **Biological Control**, v. 58, n. 2, p. 83–95, 2011.

COUDRON, T. A.; ELLERSIECK, M. R.; SHELBY, K. S. Influence of diet on long-term cold storage of the predator *Podisus maculiventris* (Say) (Heteroptera: Pentatomidae). **Biological Control**, v. 42, n. 2, p. 186–195, 2007.

DIAS, T. K. R.; WILCKEN, C. F.; SOLIMAN, E. P.; BARBOSA, L. R.; SERRÃO, J. E.; ZANUNCIO, J. C. Predation of *Thaumastocoris peregrinus* (Hemiptera: Thaumastocoridae) by *Atopozelus opsimus* (Hemiptera: Reduviidae) in Brazil. **Invertebrate Survival Journal**, v. 11, p. 224–227, 2014.

FOERSTER, L. A.; DOETZER, A. K.; CASTRO, L. C. F. DE. Emergence, longevity and fecundity of *Trissolcus basal* and *Telenomus podisi* after cold storage in the pupal stage. **Pesquisa Agropecuaria Brasileira**, v. 39, n. 9, p. 841–845, 2004.

JACOBS, D. H.; NESER, S. *Thaumastocoris australicus* Kirkaldy (Heteroptera: Thaumastocoridae): a new insect arrival in South Africa, damaging to Eucalyptus trees. **South African Journal Of Science**, , n. June, p. 233–236, 2005.

JALALI, S. K.; VENKATESAN, T.; MURTHY, K. S.; RABINDRA, R. J.; LALITHA, Y. Vacuum packaging of *Corcyra cephalonica* (Stainton) eggs to enhance shelf life for parasitization by the egg parasitoid *Trichogramma chilonis*. **Biological Control**, v. 41, n. 1, p. 64–67, 2007.

KAKAR, M. E., KHAN, M. A., KHAN, M. S., ASHRAF, K., KAKAR, M. A., JAN, S., RAZZAQ, A. Prevalence of tick infestation in different breeds of cattle in Balochistan. **Journal of Animal & Plant Sciences**, v. 27, n. 3, 2017.

KIDANE, D.; YANG, N. W.; WAN, F. H. Effect of cold storage on the biological fitness of *Encarsia sophia* (Hymenoptera: Aphelinidae), a parasitoid of *Bemisia tabaci* (Hemiptera: Aleyrodidae). **European Journal of Entomology**, v. 112, n. 3, p. 460–469, 2015.

LEOPOLD, R. A. Cold storage of insects for Integrated Pest Management. **Temperature Sensitivity in Insects and Application in Integrated Pest Management**, n. Ferguson 1990, p. 235–267, 1998.

MARTÍNEZ, G.; FINOZZI, M. V.; CANTERO, G.; et al. Oviposition preference but not adult feeding preference matches with offspring performance in the bronze bug *Thaumastocoris peregrinus*. **Entomologia Experimentalis et Applicata**, v. 163, n. 1, p. 101–111, 2017.

MARTÍNEZ, G.; LÓPEZ, L.; CANTERO, G.; GONZÁLEZ, A.; DICKE, M. Life-history analysis of *Thaumastocoris peregrinus* in a newly designed mass rearing strategy. **Bulletin of Insectology**, v. LXVII, n. 2, p. 199–205, 2014.

MASCARIN, G. M.; DUARTE, V. DA S.; BRANDÃO, M. M.; DELALIBERA, Í. Natural occurrence of *Zoophthora radicans* (Entomophthorales: Entomophthoraceae) on *Thaumastocoris peregrinus* (Heteroptera: Thaumastocoridae), an invasive pest recently found in Brazil. **Journal of Invertebrate Pathology**, v. 110, n. 3, p. 401–404, 2012.

MUTITU, E. K.; GARNAS, J. R.; HURLEY, B. P.; WINGFIELD, M. J.; HARNEY, M., BUSH; S. J., SLIPPERS, B. Biology and rearing of *Cleruchoides noackae* (Hymenoptera: Mymaridae), an egg parasitoid for the biological control of *Thaumastocoris peregrinus* (Hemiptera: Thaumastocoridae). **Journal of Economic Entomology**, v. 106, n. 5, p. 1979–1985, 2013.

NADEL, R. L.; NOACK, A. E. Current understanding of the biology of *Thaumastocoris peregrinus* in the quest for a management strategy. **International Journal of Pest Management**, v. 58, n. 3, p. 257–266, 2012.

NADEL, R. L., WINGFIELD, M. J., SCHOLLES, M. C., GARNAS, J. R.,

LAWSON, S. A., SLIPPERS, B. Population dynamics of *Thaumastocoris peregrinus* in *Eucalyptus* plantations of South Africa. **Journal of Pest Science**, v. 88, n. 1, p. 97–106, 2015.

PARRA, J. R. P. Mass Rearing of Egg Parasitoids for Biological Control Programs. **Egg Parasitoids in Agroecosystems with Emphasis on Trichogramma**. Springer Netherlands, 2009. p. 267-292.

PEREIRA, J. M.; MELO, A. P. C. DE; FERNANDES, P. M.; SOLIMAN, E. P. Ocorrência de *Thaumastocoris peregrinus* Carpintero & Dellapé (Hemiptera: Thaumastocoridae) no estado de Goiás. **Ciência Rural**, v. 43, n. 2, p. 254–257, 2013.

RIBEIRO, R. R. ***Beauveria bassiana* Vuill.(Ascomycetes: Clavicipitaceae) sobre *Thaumastocoris peregrinus* Carpinteiro & Dellapé (Hemiptera: Thaumastocoridae)**. Universidade Tecnológica Federal do Paraná, 2016.

RUNDLE, B. J.; THOMSON, L. J.; HOFFMANN, A. A. Effects of cold storage on field and laboratory performance of *Trichogramma carverae* (Hymenoptera: Trichogrammatidae) and the response of three *Trichogramma* spp. (*T. carverae*, *T. nr. brassicae*, and *T. funiculatum*) to cold.. **Journal of Economic Entomology**, v. 97, n. 2, p. 213–221, 2004.

SABBATINI PEVERIERI, G.; FURLAN, P.; BENASSAI, D.; STRONG, W. B.; ROVERSI, P. F. Long-term storage of eggs of *Leptoglossus occidentalis* for the mass-rearing of its parasitoid *Gryon pennsylvanicum*. **BioControl**, v. 60, n. 3, p. 293–306, 2015.

SCHNELL E SCHÜHLI, G.; PENTEADO, S. C.; BARBOSA, L. R.; FILHO, W. R.; IEDE, E. T. A review of the introduced forest pests in Brazil. **Pesquisa Agropecuaria Brasileira**, v. 51, n. 5, p. 397–406, 2016.

SOUZA, A. R. DE; CANDELARIA, M. C.; BARBOSA, L. R.; et al. Longevity of *Cleruchoides noackae* (Hymenoptera: Mymaridae), an egg parasitoid of *Thaumastocoris peregrinus* (Hemiptera: Thaumastocoridae), with various honey concentrations and at several temperatures. **Floresta Alti**, v. 99, n. 1, p. 33–37, 2016.

SOUZA, G. K., PIKART, T. G., PIKART, F. C., SERRÃO, J. E., WILCKEN, C. F., ZANUNCIO, J. C. First record of a native Heteropteran preying on the introduced *Eucalyptus* Pest, *Thaumastocoris peregrinus* (Hemiptera:

Thaumastocoridae), in Brazil. **Florida Entomologist**, v. 95, n. 2, p. 517–520, 2012.

SPINOLA-FILHO, C. P. R. DE; LEITE, D. G. L.; SOARES, M. A. Effects of duration of cold storage of host eggs on percent parasitism and adult emergence of each of ten Trichogrammatidae (Hymenoptera) species. **Florida Entomologist**, v. 97, n. 1, p. 14–21, 2014.

ST-ONGE, M.; CORMIER, D.; TODOROVA, S.; LUCAS, E. Conservation of *Ephestia kuehniella* eggs as hosts for *Trichogramma ostrinae*. **Journal of Applied Entomology**, v. 140, n. 3, p. 218–222, 2016.

ST-ONGE, M.; CORMIER, D.; TODOROVA, S.; LUCAS, É. Comparison of *Ephestia kuehniella* eggs sterilization methods for *Trichogramma* rearing. **Biological Control**, v. 70, p. 73–77, 2014.

TAUBER, M. J.; TAUBER, C. A.; MASAKI, S. **Seasonal adaptations of insects**. Oxford University Press on Demand, 1986.

TEZZE, A. A.; BOTTO, E. N. Effect of cold storage on the quality of *Trichogramma nerudai* (Hymenoptera: Trichogrammatidae). **Biological Control**, v. 30, n. 1, p. 11–16, 2004.

WANG, Z. Y.; HE, K. L.; ZHANG, F.; LU, X.; BABENDREIER, D. Mass rearing and release of *Trichogramma* for biological control of insect pests of corn in China. **Biological Control**, v. 68, n. 1, p. 136–144, 2014.

WILCKEN, C., SOLIMAN, E., DE SÁ, L., BARBOSA, L., DIAS R., T., FERREIRA-FILHO, P., OLIVEIRA, R. Bronze bug *Thaumastocoris peregrinus* Carpintero and Dellapé (Hemiptera: Thaumastocoridae) on *Eucalyptus* in Brazil and its distribution. **Journal of Plant Protection Research**, v. 50, n. 2, p. 201–205, 2010. Versita.

YAN, Z.; YUE, J. J. J.; BAI, C.; PENG, Z. Q. Q.; ZHANG, C. H. H. Effects of cold storage on the biological characteristics of *Microplitis prodeniae* (Hymenoptera: Braconidae). **Bulletin of Entomological Research**, , n. May, p. 1–7, 2017.

3. CAPÍTULO I - ARMAZENAMENTO EM BAIXA TEMPERATURA DE OVOS DE *Thaumastocoris peregrinus* CARPINTEIRO E DELLAPÉ (HEMIPTERA: THAUMASTOCORIDAE) PARA CRIAÇÃO MASSAL DE *Cleruchoides noackae* LIN E HUBER (HYMENOPTERA: MYMARIDAE)

RESUMO

O endoparasitoide de ovos *Cleruchoides noackae* é o principal agente no controle biológico de *Thaumastocoris peregrinus*, importante praga na eucaliptocultura. A utilização de tecnologias que possibilitem o fornecimento de hospedeiros de qualidade e em quantidades suficientes é um desafio para a criação massal desse inimigo natural. Assim, objetivou-se verificar o efeito de ovos de *T. peregrinus* armazenados em diferentes períodos de tempo a 5° C sobre parâmetros biológicos de *C. noackae* otimizar a criação massal do parasitoide. Ovos de *T. peregrinus* foram armazenados a 5 °C por 0, 15, 30, 45 e 60 dias e ofertados a casais de *C. noackae* por 24 horas. Realizou-se a avaliação da progênie, sendo que o melhor período de armazenamento foi utilizado para a criação massal do parasitoide por 5 gerações seguidas. A emergência e a capacidade de parasitismo da progênie em ovos armazenados diminuiu significativamente após 15 dias, porém, a razão sexual, adultos retidos e o período de desenvolvimento não foram afetados em nenhum dos períodos testados. Ovos de *T. peregrinus* podem ser armazenados a 5 °C por até 15 dias, por não apresentarem alteração no desenvolvimento, na reprodução do parasitoide e nas características da progênie durante cinco gerações consecutivas.

Palavra-chave: Controle biológico; parasitoide de ovos; percevejo bronzeado; eucalipto; armazenamento de hospedeiro.

LOW TEMPERATURE STORAGE OF *Thaumastocoris peregrinus*
CARPINTEIRO AND DELLAPÉ (HEMIPTERA: THAUMASTOCORIDAE)
EGGS FOR MASS REARING OF *Cleruchoides noackae* LIN AND HUBER
(HYMENOPTERA: MYMARIDAE)

ABSTRACT

The egg endoparasitoid *Cleruchoides noackae* is the main agent in the biological control of *Thaumastocoris peregrinus*, an important eucalyptus pest. The use of technologies that enables the provision of quality and sufficient hosts is a challenge for the mass rearing of this natural enemy. Therefore, the objective was to evaluate the possibility of cold storing *T. peregrinus* eggs to optimize the mass rearing of *C. noackae*. Eggs of *T. peregrinus* were stored at 5 °C for 0, 15, 30, 45 and 60 days and offered to females of *C. noackae* for 24 hours. Based on parasitism and emergence rates of *C. noackae* on stored eggs and its progeny production, the parasitoid was reared for five consecutive generations under the treatment that provided the best storage period. The emergence and parasitism capacity at stored egg progeny decreased for periods longer than 15 days, however, the sex ratio, development period and retained adults were not affected in none of the tested periods. Eggs of *T. peregrinus* can be stored at 5 °C for up to 15 days without affecting the development and reproduction of the parasitoid during five consecutive generations.

Key words: Biological control; egg parasitoid; bronze bug; eucalyptus; host storage.

3.1 INTRODUÇÃO

Thaumastocoris peregrinus Carpinteiro e Dellapé (Hemiptera: Thaumastocoridae), também conhecido por percevejo bronzeado do eucalipto é um inseto que causa grandes perdas na eucaliptocultura (NADEL; NOACK, 2012). A principal alternativa para seu controle é a utilização de inimigos naturais, uma vez que o uso de inseticidas sintéticos em extensas áreas florestais é ecologicamente e economicamente inviável (GARNAS et al., 2012).

O parasitoide solitário de ovos *Cleruchoidea noackae* Lin e Huber (Hymenoptera: Mymaridae) é o principal agente de controle biológico de *T. peregrinus* (LIN et al., 2007; NADEL; NOACK, 2012). Este parasitoide foi introduzido no Brasil em 2012, e após liberação em diversas regiões do país, seu estabelecimento no campo foi confirmado com parasitismo de aproximadamente 50% em ovos de *T. peregrinus* (BARBOSA et al., 2017).

A obtenção de inimigos naturais em quantidade suficiente para suprir a demanda das liberações a campo em períodos de surtos de pragas, é um dos principais obstáculos do controle biológico (COUDRON et al., 2007), gerando alta e constante demanda por hospedeiros de qualidade (ST-ONGE et al., 2016). Portanto, torna-se necessária a busca por técnicas que viabilizem a produção massal desses agentes de controle (SPINOLA-FILHO et al., 2014; COLINET; BOIVIN, 2011).

O armazenamento de hospedeiros em baixas temperaturas, é uma estratégia que reduz custos e proporciona a oferta constante de ovos para a multiplicação dos parasitoides (COLINET; BOIVIN, 2011; SPINOLA-FILHO et al., 2014). A oferta de hospedeiros de qualidade é essencial para o desenvolvimento e reprodução de inimigos naturais viáveis (KIVAN; KILIC, 2005; BERNARDO et al., 2008; COLINET; BOIVIN, 2011).

Além da temperatura, a duração do período de armazenamento também está relacionado à preservação da qualidade do hospedeiro e com a aceitação pelo parasitoide (LYSYK, 2004). No entanto, longos períodos de armazenamento podem reduzir a qualidade do hospedeiro, afetando assim o desenvolvimento e o desempenho reprodutivo do parasitoide (KOŠTÁL et al., 2004).

A eficiência do armazenamento do hospedeiro em baixas temperaturas já foi relatada para *Gonatocerus ashmeadi* Girault (Hymenoptera, Mymaridae) (CHEN; LEOPOLD, 2007), *Gryon pennsylvanicum* Ashmead (Hymenoptera, Platygasteridae) (PEVERIERI et al., 2015), *Telenomus remus* Nixon (Hymenoptera: Platygasteridae) (QUEIROZ et al., 2017), *Microplitis prodeniae* Rao e Chandry (Hymenoptera: Braconidae) (YAN et al., 2017), *Trichospilus diatraeae* Cherian e Margabandhu (Hymenoptera: Eulophidae) (PASTORI et al., 2013), *Encarsia sophia* Girault e Dodd (Hymenoptera: Aphelinidae) (KIDANE et al., 2015), *Corcyra cephalonica* Stainton (Lepidoptera: Pyralidae) e em diversas espécies de *Trichogrammatidae* (AYVAZ et al., 2008; SPINOLA-FILHO et al., 2014; WANG et al., 2014; ST-ONGE et al., 2016). No entanto, relatos da utilização de ovos de hospedeiro armazenados são inexistentes para a multiplicação de *C. noackae*.

O objetivo deste trabalho foi avaliar o desenvolvimento e o parasitismo de *C. noackae* criados em ovos de *T. peregrinus* armazenados a 5 °C por diferentes períodos de tempo.

3.2 MATERIAL E MÉTODOS

O estudo foi realizado no laboratório de Entomologia da Embrapa Florestas, Colombo, estado do Paraná, Brasil.

3.2.1 CRIAÇÃO MASSAL DE *T. peregrinus*

O percevejo bronzeado foi coletado no campo e criado em sala climatizada (22 ± 2 °C, $50 \pm 10\%$ de UR e fotofase de 12 horas) sobre ramos de *Eucalyptus benthamii* Maidan e Cambage. Os ramos foram envoltos por uma tira de espuma de 15 cm e colocados dentro de um frasco de Erlenmeyer de 500 mL com água. Após o inseto se alimentar desses ramos, um novo buquê era encostado no antigo para que o inseto migrasse para as novas folhas em

busca de alimento. Tiras de papel toalha foram colocadas sobre os ramos de eucalipto para a oviposição onde ocorria coleta diária dos ovos. Parte dos ovos foram utilizados nos experimentos de armazenamento a 5 °C e o restante foi utilizado nos experimentos que exigiam ovos de *T. peregrinus* frescos.

3.2.2 CRIAÇÃO MASSAL DE *C. noackae*

A criação de *C. noackae* foi iniciada com indivíduos introduzidos da Austrália em 2012. O parasitoide foi criado em ovos de *T. peregrinus* em sala climatizada (24 ± 2 °C, $60 \pm 10\%$ de UR e fotofase de 12 horas), em frascos de poliestireno de 7,0 cm de comprimento e 3,0 cm de diâmetro e alimentados com solução de mel 50% ofertada em tiras de papel filtro.

3.2.3 PARASITISMO DE *C. noackae* EM OVOS DE *T. peregrinus* ARMAZENADOS A 5°C.

Ovos de *T. peregrinus* (< 24 h de idade), foram colocados em caixa tipo gerbox (11 x 11 x 3,5 cm) e armazenados em câmara climatizada (5 ± 2 °C, UR 60%, no escuro), por zero (não armazenado), 15, 30, 45 e 60 dias. Após esse período, os ovos foram aclimatados por duas horas em sala climatizada a $24^\circ \pm 2$ °C, UR 60% e fotofase de 12 horas e ofertados em frascos de poliestireno (7,0 cm de comprimento e 3,0 cm de diâmetro) por 24 h a um casal de *C. noackae* (< 24 h de idade). Após esse períodos, os parasitoides foram removidos e os ovos mantidos a (24 ± 2 °C, $60 \pm 10\%$ UR e fotofase de 12 h). Para alimentação dos parasitoides foi utilizado solução de mel 50% ofertada em tiras de papel filtro (0,5 cm x 5 cm). Foram utilizadas 20 repetições com 10 ovos de *T. peregrinus* cada uma.

A avaliação da progênie F2 (progênie oriunda de parasitoides emergidos dos ovos armazenados), foi realizada apenas com adultos emergidos dos tratamentos de 15 e 30 dias devido à baixa porcentagem de emergência dos

outros tratamentos. Para tanto, adultos de *C. noackae* (< 24 h de idade) emergidos de ovos de *T. peregrinus* armazenados por 15 e 30 dias receberam ovos de *T. peregrinus* (< 24 h de idade) por 24 h utilizando os mesmos procedimentos metodológicos descritos anteriormente num total de 15 repetições, com 10 ovos cada.

3.2.4 CRIAÇÃO DE *C. noackae* POR CINCO GERAÇÕES UTILIZANDO OVOS DE *T. peregrinus* ARMAZENADOS A 5 °C.

Uma nova população de *C. noackae*, de insetos oriundos do campo, foi criada até a 10ª geração, com ovos não armazenados de *T. peregrinus* com até 24 h de idade e da 11ª à 15ª geração em ovos armazenados por 15 dias em câmara climatizada (5 ± 2 °C, UR 60%, no escuro). Avaliações de desenvolvimento e reprodução de *C. noackae* foram realizadas da 10ª geração (controle) até a 15ª geração, com a oferta de dez ovos de *T. peregrinus* em frascos de poliestireno (7,0 cm de comprimento e 3,0 cm de diâmetro) por 24 h a um casal de *C. noackae* (< 24 h de idade). Foram utilizadas 20 repetições com 10 ovos de *T. peregrinus* por avaliação. Para alimentação dos parasitoides foi utilizado solução de mel 50% ofertada em tiras de papel filtro (0,5 cm x 5 cm). Após esse período os parasitoides foram retirados e os ovos mantidos em sala climatizada (24 ± 2 °C, UR 60% e fotofase de 12 h). A utilização de ovos armazenados a 5 °C durante 15 dias foi definida após resultados obtidos no experimento anterior.

3.2.5 PARÂMETROS AVALIADOS

Foram avaliados a porcentagem de ninfas eclodidas e ovos inviáveis de *T. peregrinus* dos tratamentos, a porcentagem de parasitoides emergidos, não emergidos (adultos retidos nos ovos), e parasitismo (parasitoides emergidos + não emergidos), a duração do período de desenvolvimento (ovo-adulto) e a

razão sexual ($RS = N^{\circ}\text{♀} / N^{\circ}\text{♂} + N^{\circ}\text{♀}$) de *C. noackae*. A avaliação da geração F1 foi feita apenas com adultos emergidos de ovos de *T. peregrinus* armazenados por 15 e 30 dias, devido ao baixo número de parasitoides emergidos nos outros períodos de armazenamento.

3.2.6 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os dados foram avaliados por análise de desvio para o modelo que considerou o efeito dos tratamentos. Os dados de contagem foram analisados por modelos lineares generalizados (GLM) com distribuição de Poisson. A distribuição Quasi foi adotada para a razão sexual e o período de desenvolvimento. As comparações entre os tratamentos foram feitas pelo teste de diferença honestamente significativa (HSD) de Tukey ($P < 0,05$). A análise estatística foi feita utilizando R language, versão 3.3.2 (R Core Team, 2016).

3.3 RESULTADOS

3.3.1 PARASITISMO DE *C. noackae* EM OVOS DE *T. peregrinus* ARMAZENADOS A 5 °C.

C. noackae parasitou os ovos de *T. peregrinus* armazenados a 5 ± 2 °C por até 60 dias (Figura 1). A porcentagem de parasitismo de ovos armazenados por 15 dias foi semelhante aos ovos frescos e superior àqueles armazenados por 30, 45 e 60 dias os quais foram semelhantes entre si ($X^2 = 130,71$; $df = 4$; 95 ; $P < 0,0001$) (Figura 1A). Da mesma forma, a porcentagem de parasitoides emergidos diminuiu com o aumento do período de armazenamento do ovo ($X^2 = 199,13$; $df = 4$; 95 ; $P = 0,0001$ (Figura 1B).

A geração F1 do parasitoide, oriunda dos ovos armazenados, parasitou os ovos ofertados de *T. peregrinus*, originando a geração F2, a qual não apresentou alteração na porcentagem total de parasitismo ($X^2 = 0,0249$; $df =$

2:47; $P= 0,9876$) (Figura 1C) e de parasitoides emergidos ($X^2= 1,0862$; $df= 2:47$; $P= 0,5809$) (Figura 1D).

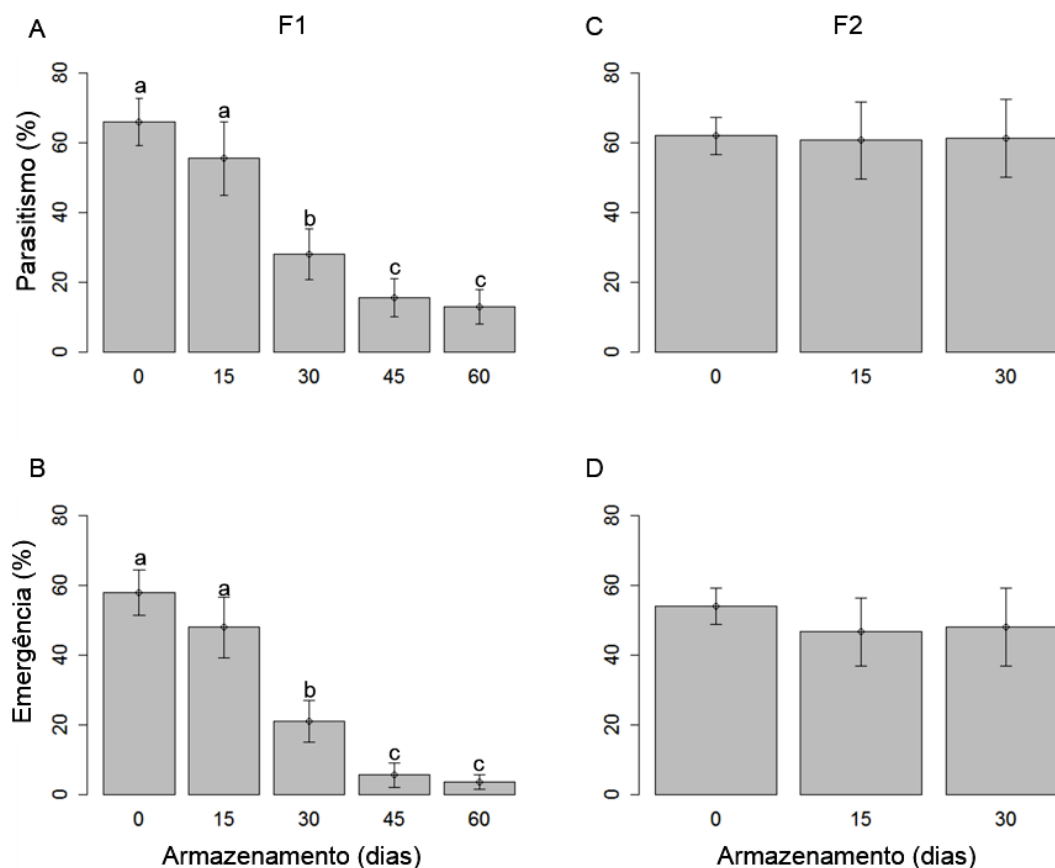


Figura 1. Parasitismo (A, C), emergência (B, D) (média \pm 95% intervalo de confiança) das gerações F1 e F2 de *Cleruchoides noackae* (Hymenoptera: Mymaridae) em ovos de *Thaumastocoris peregrinus* (Hemiptera: Thaumastocoridae) armazenados a 5 ± 2 °C. Barras com letras diferentes, por parâmetro, diferem pelo teste de Tukey ($P < 0,05$).

O período de armazenamento de ovos de *T. peregrinus* a 5 ± 2 °C não afetou a razão sexual ($X^2 = 2271,2$; $df= 4:65$; $P= 0,4436$) e duração do período de desenvolvimento (ovo-adulto) ($X^2= 0,7785$; $df= 4:65$; $P= 0,28$) de *C. noackae* (Tabela 1).

Tabela 1. Adultos retidos (Ret.), razão sexual (RS.), período de desenvolvimento (ovo – adulto) (Per.) ($24 \pm 2^\circ\text{C}$, UR 60% e fotofase 12 h) da geração F1 de *Cleruchoides noackae* (Hymenoptera: Mymaridae) (Média \pm EP) após períodos de armazenamento de ovos do hospedeiro *Thaumastocoris peregrinus* (Hemiptera: Thaumastocoridae) a $5 \pm 2^\circ\text{C}$.

Armazenamento (dias)	Ret. (%) [*]		RS (%) [*]		Per. (dias) [*]
0	8,00	$\pm 1,56$	73,00	$\pm 0,04$	15,41 $\pm 0,06$
15	7,50	$\pm 1,60$	76,00	$\pm 0,04$	15,50 $\pm 0,11$
30	7,00	$\pm 1,47$	60,00	$\pm 0,07$	15,61 $\pm 0,07$
45	10,00	$\pm 2,29$			
60	9,50	$\pm 2,35$			

^{*}Não significativo pelo teste de Tukey ($P < 0,05$)

Com o aumento do período de armazenamento de ovos houve aumento na porcentagem de ovos inviáveis de *T. peregrinus* ($X^2=364,05$; $df= 4:95$ $P= 0,0001$) enquanto a porcentagem de ninfas diminuiu, não havendo eclosão em ovos armazenados por mais de 45 dias ($X^2= 226,63$; $df= 4:95$; $P= 0,0001$) (Tabela 2) na geração F1.

Tabela 2. Ovos inviáveis (OV) e ninfas (Nin.) (Média \pm EP) de *Thaumastocoris peregrinus* (Hemiptera: Thaumastocoridae) após períodos de armazenamento de seus ovos a $5 \pm 2^\circ\text{C}$ da geração F1 de *Cleruchoides noackae* (Hymenoptera: Mymaridae) ($24 \pm 2^\circ\text{C}$, UR 60% e fotofase 12 h).

Armazenamento (dias)	OV (%)	Nin. (%)
0	2,00 $\pm 0,60$ b	32,00 $\pm 1,64$ a
15	9,50 $\pm 1,46$ b	35,00 $\pm 2,27$ a
30	70,50 $\pm 1,83$ a	1,50 $\pm 0,42$ b
45	84,50 $\pm 1,41$ a	0,00 $\pm 0,00$ c
60	87,00 $\pm 1,29$ a	0,00 $\pm 0,00$ c

Médias seguidas da mesma letra na coluna não diferem entre si (Tukey, $P < 0,05$).

O mesmo ocorreu para a geração F2, em relação a porcentagem de adultos retidos ($X^2 = 3,5613$; $df= 2:47$; $P= 0,1685$), razão sexual ($X^2 = 1096,3$; $P=0,1358$) e período de desenvolvimento (ovo-adulto) ($X^2 = 0,19066$; $df= 2:47$; $P= 0,4438$) em relação à testemunha (Tabela 3).

Tabela 3. Adultos retidos (Ret.), razão sexual (RS.), período de desenvolvimento (ovo – adulto) (Per.) (24 ± 2 °C, UR 60% e fotofase 12 h) da geração F2 de *Cleruchoides noackae* (Hymenoptera: Mymaridae) (Média \pm EP) após períodos de armazenamento de ovos do hospedeiro *Thaumastocoris peregrinus* (Hemiptera: Thaumastocoridae) a 5 ± 2 °C.

Armazenamento (dias)	Ret. (%) [*]	RS (%) [*]	Per. (dias) [*]
0	14,00 \pm 1,30	62,92 \pm 4,13	15,55 \pm 0,09
15	13,33 \pm 1,29	74,03 \pm 4,12	15,50 \pm 0,11
30	8,00 \pm 0,70	72,24 \pm 3,89	15,40 \pm 0,06

^{*}Não significativo pelo teste de Tukey ($P < 0,05$)

Não houve diferença significativa na porcentagem de ovos inviáveis ($X^2 = 364,05$; $df = 4:95$ $P = 0,0001$) e ninfas de *T. peregrinus* ($X^2 = 226,63$; $df = 4:95$; $P = 0,0001$) na avaliação da geração F2 de *C. noackae* (Tabela 4).

Tabela 4. Ovos inviáveis (OV) e ninfas (Nin.) (Média \pm EP) de *Thaumastocoris peregrinus* (Hemiptera: Thaumastocoridae) após períodos de armazenamento de seus ovos a 5 ± 2 °C na geração F2 de *Cleruchoides noackae* (Hymenoptera: Mymaridae) (24 ± 2 °C, UR 60% e fotofase 12 h).

Armazenamento (dias)	OV (%) [*]	Nin. (%) [*]
0	6,00 \pm 0,97	33,33 \pm 2,85
15	4,00 \pm 0,97	34,67 \pm 3,14
30	7,00 \pm 0,84	31,00 \pm 1,43

^{*}Não significativo pelo teste de Tukey ($P < 0,05$)

3.3.2 CRIAÇÃO DE *C. noackae* POR CINCO GERAÇÕES UTILIZANDO OVOS DE *T. peregrinus* ARMAZENADOS A 5 °C.

A utilização de ovos de *T. peregrinus* armazenados a 5 °C por 15 dias na criação massal de *C. noackae* durante cinco gerações não afetou significativamente a porcentagem de parasitismo comparando com a geração em que utilizaram-se ovos não armazenados (10ª geração) ($X^2 = 2,9841$; $df = 5;114$; $P = 0,7024$), emergência ($X^2 = 2,7022$; $df = 5;114$; $P = 0,7458$) e razão sexual ($X^2 = 11,279$; $df = 5;107$; $P = 0,8339$) (Figura 2).

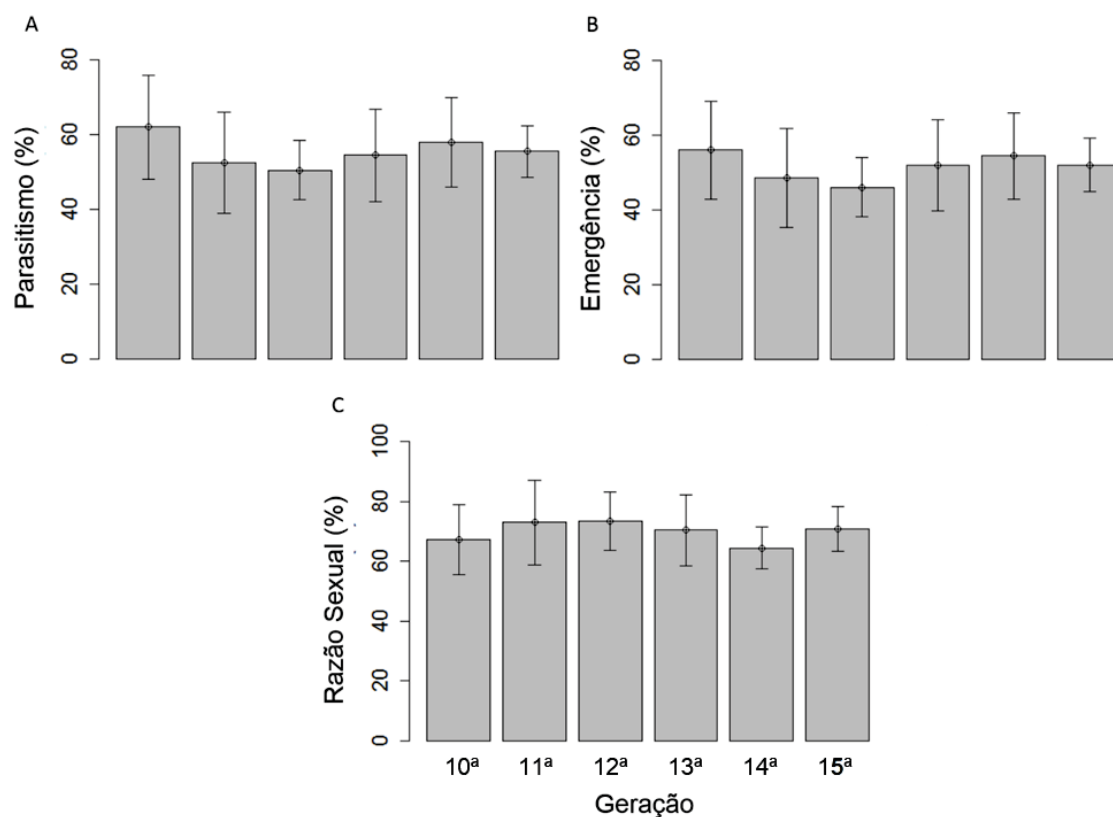


Figura 2. Parasitismo (A), emergência (B) e razão sexual (C) (média \pm 95% intervalo de confiança) de *Cleruchoides noackae* (Hymenoptera: Mymaridae) criado com ovos de *Thaumastocoris peregrinus* (Hemiptera: Thaumastocoridae) com 24 h (10^a) e por cinco gerações em ovos armazenados por 15 dias (11^a à 15^a) (24 ± 2 °C, UR 60% e fotofase de 12 h).

O mesmo ocorreu para a porcentagem de insetos retidos ($X^2= 3,7984$; $df= 5;114$; $P= 0,5788$) e período de desenvolvimento ($X^2= 0,9505$; $df= 5;107$; $P= 0,158$) do parasitoide (Tabela 5)

Tabela 5. Adultos retidos (Ret.) e período de desenvolvimento (ovo – adulto) (Per.) (24 ± 2 °C, UR 60% e fotofase 12 h) do controle (ovo fresco) e das 5 gerações de *Cleruchoides noackae* (Hymenoptera: Mymaridae) (Média \pm EP) criadas utilizando ovos de *Thaumastocoris peregrinus* (Hemiptera: Thaumastocoridae) armazenados por 15 dias a 5 ± 2 °C.

Geração	Ret. (%)*	Per. (dias)*
10 ^a (controle)	6,00 \pm 1,34	15,58 \pm 0,12
11 ^a	4,00 \pm 1,12	15,50 \pm 0,11
12 ^a	4,50 \pm 1,14	15,35 \pm 0,08
13 ^a	2,50 \pm 0,99	15,35 \pm 0,03
14 ^a	4,50 \pm 1,14	15,34 \pm 0,05
15 ^a	3,00 \pm 1,34	15,46 \pm 0,06

*Não significativo pelo teste de Tukey $P < 0,05$

3.4. DISCUSSÃO

3.4.1 PARASITISMO DE *C. noackae* EM OVOS DE *T. peregrinus* ARMAZENADOS A 5 °C.

O armazenamento de ovos do hospedeiro é uma técnica importante para o sucesso dos programas de controle biológico para parasitoide de ovos por possibilitar a produção dos inimigos naturais em quantidades suficientes quando ocorrem surtos de pragas (SPINOLA-FILHO et al., 2014).

A viabilidade de ovos do hospedeiro é uma combinação de tempo de exposição e temperatura, sendo que a diminuição da temperatura e o aumento do tempo de exposição podem afetar negativamente o desempenho e reprodução dos parasitoides (COLINET; HANCE, 2010).

A maior porcentagem de parasitismo e emergência de *C. noackae* foram observados em ovos armazenados durante 15 dias a 5 °C, ocorrendo redução em períodos mais prolongados. Resultados semelhantes foram observados com *Gonatocerus ashmeadi* Girault (Hymenoptera: Mymaridae) o qual teve seu desempenho e reprodução reduzidos devido ao armazenamento dos ovos de seu hospedeiro, *Homalodisca coagulata* Say (Hemiptera: Cicadellidae) a 10 °C, também foi afetado (CHEN; LEOPOLD, 2007). Para *Trichogramma galloi* Zucchi (Hymenoptera: Trichogrammatidae) o armazenamento a 5 °C de ovos de *Anagasta kuehniella* Zeller (Lepidoptera: Pyralidae) foi viável por até 5 dias (SPINOLA-FILHO et al., 2014). Para *Gryon pennsylvanicum* (Hymenoptera: Platygasteridae) o armazenamento a 4 °C do hospedeiro *Leptoglossus occidentalis* Heidemann (Heteroptera: Coreidae) foi viável por até 3 meses (PEVERIERI et al., 2015).

A redução da emergência e parasitismo de *C. noackae* pode ser atribuída à perda de propriedades favoráveis ao desenvolvimento do parasitoide, como a desidratação dos ovos (STEENBURGH, 1934), diminuição da qualidade nutricional no conteúdo do ovo (PRATISSOLI et al., 2003; CHEN; LEOPOLD, 2007), alterações e danos estruturais nas células (GRECO; STILINOVIC, 1998) nos ovos dos hospedeiros quando submetidos a baixas temperaturas por longos períodos.

A razão sexual dos adultos não foi afetada pelo armazenamento por até 30 dias, mantendo uma porcentagem de fêmeas maior que a de machos. Para o controle biológico de *T. peregrinus* a presença do macho é essencial, pois mesmo que os machos não contribuam com o parasitismo para a redução da população da praga, eles são importantes para a reprodução e estabelecimento de *C. noackae* a campo devido à ocorrência de partenogênese arrenótoca (MUTITU et al., 2013).

A porcentagem de ninfas eclodidas de *T. peregrinus* reduziu drasticamente com 30 dias de armazenamento, aumentando a porcentagem de ovos inviáveis, sendo que essa redução na qualidade dos ovos pode ser causada pela morte de *T. peregrinus* ainda como embrião, causando degradação da composição nutricional dos ovos.

Características de reprodução das gerações de parasitoides são avaliações importantes a serem realizadas quando utilizam-se ovos de hospedeiros armazenados para a criação massal (CHEN; LEOPOLD, 2007). Os resultados obtidos na geração F2 não diferiram com relação à testemunha (ovos frescos) quando utilizados ovos de *T. peregrinus* armazenados por 15 e 30 dias, porém para geração F1 ocorreu uma redução na emergência dos insetos, mas não efeitos relacionados a capacidade reprodutiva destes. Mostrando que os ovos armazenados por até 30 dias não alteram as características reprodutivas de *C. noackae*.

3.4.2 CRIAÇÃO DE *C. noackae* POR CINCO GERAÇÕES UTILIZANDO OVOS DE *T. peregrinus* ARMAZENADOS A 5 °C.

A criação massal é relacionada com a produção de grande quantidade de insetos para posterior liberação a campo (CHAMBERS, 1977). Esses insetos são responsáveis pela redução da população da praga, porém o sucesso em programas de controle biológico depende da qualidade dos insetos enviados a campo. Resultados obtidos abaixo do esperado podem ser reflexos da baixa qualidade dos insetos criados em laboratório (HUETTEL, 1976).

A criação de *C. noackae* em laboratório utilizando ovos de *T. peregrinus* armazenados por 15 dias a 5 °C durante 5 gerações não diferiu do controle (10ª geração), em relação aos parâmetros avaliados, permitindo o uso dessa técnica para a criação de *C. noackae* em laboratório sem afetar o desempenho e reprodução do parasitoide.

3.5 CONCLUSÕES

O uso de ovos de *T. peregrinus* armazenados por 15 dias a 5 °C é uma alternativa para otimizar a criação massal de *C. noackae*, e essa técnica pode ser empregada durante 5 gerações seguidas sem causar impactos negativos na reprodução do parasitoide.

A técnica de armazenamento por 15 dias a 5° C aumenta a oferta de hospedeiros para *C. noackae*, possibilitando sua criação e posteriormente liberação de grande quantidade de insetos no campo.

3.6 REFERÊNCIAS

AYVAZ, A.; KARASU, E.; KARABÖRKLÜ, S.; TUNÇBILEK, A. Ş. Effects of cold storage, rearing temperature, parasitoid age and irradiation on the performance of *Trichogramma evanescens* Westwood (Hymenoptera: Trichogrammatidae). **Journal of Stored Products Research**, v. 44, n. 3, p. 232–240, 2008.

BERNARDO, U.; IODICE, L.; SASSO, R.; PEDATA, P. A. Effects of cold storage on *Thripobius javae* (= *T. semiluteus*) (Hymenoptera: Eulophidae). **Biocontrol Science and Technology**, v. 18, n. 9, p. 921–933, 2008. Taylor & Francis Group.

CHAMBERS, D. L. Quality Control in Mass Rearing. **Annual Review of Entomology**, v. 22, n. 1, p. 289–308, 1977.

CHEN, W.-L.; LEOPOLD, R. A. Progeny quality of *Gonatocerus ashmeadi* (Hymenoptera: Mymaridae) reared on stored eggs of *Homalodisca coagulata* (Hemiptera: Cicadellidae). **Journal of Economic Entomology**, v. 100, n. 3, p. 685–694, 2007.

COLINET, H.; BOIVIN, G. Insect parasitoids cold storage: A comprehensive review of factors of variability and consequences. **Biological Control**, v. 58, n. 2, p. 83–95, 2011.

COLINET, H.; HANCE, T. Interspecific variation in the response to low temperature storage in different aphid parasitoids. **Annals of Applied Biology**, v. 156, n. 1, p. 147–156, 2010.

COUDRON, T. A.; ELLERSIECK, M. R.; SHELBY, K. S. Influence of diet on long-term cold storage of the predator *Podisus maculiventris* (Say) (Heteroptera: Pentatomidae). **Biological Control**, v. 42, n. 2, p. 186–195, 2007.

GARNAS, J. R.; HURLEY, B. P.; SLIPPERS, B.; WINGFIELD, M. J. Biological control of forest plantation pests in an interconnected world requires greater international focus. **International Journal of Pest Management**, v. 58, n. 3, p. 211–223, 2012.

GRECO, C. F.; STILINOVIC, D. Parasitization performance of *Trichogramma* spp. (Hym., Trichogrammatidae) reared on eggs of *Sitotroga cerealella* Oliver (Lep., Gelechiidae) stored at freezing and subfreezing conditions. **Journal of Applied Entomology**, v. 122, n. 1–5, p. 122–314, 1998.

HUETTEL, M. D. Monitoring the quality of laboratory-reared insects: a biological and behavioral perspective. **Environmental Entomology**, v. 5, n. 5, p. 807–814, 1976. Oxford University Press.

KIDANE, D.; YANG, N. W.; WAN, F. H. Effect of cold storage on the biological fitness of *Encarsia sophia* (Hymenoptera: Aphelinidae), a parasitoid of *Bemisia tabaci* (Hemiptera: Aleyrodidae). **European Journal of Entomology**, v. 112, n. 3, p. 460–469, 2015.

KIVAN, M.; KILIC, N. Effects of storage at low-temperature of various heteropteran host eggs on the egg parasitoid, *Trissolcus semistriatus*. **BioControl**, v. 50, n. 4, p. 589–600, 2005.

KOŠTÁL, V.; VAMBERA, J.; BASTL, J. On the nature of pre-freeze mortality in insects: water balance, ion homeostasis and energy charge in the adults of *Pyrrhocoris apterus*. **Journal of Experimental Biology**, v. 207, n. 9, p. 1509–1521, 2004.

LIN, N. Q.; HUBER, J. T.; SALLE, J. LA. The australian genera of Mymaridae (Hymenoptera: Chalcidoidea). **Zootaxa** 1596: 1-111.2007.

LYSYK, T. J. Effects of cold storage on development and survival of three species of parasitoids (Hymenoptera: Pteromalidae) of house fly, *Musca domestica* L. **Environmental Entomology**, v. 33, n. 4, p. 823–831, 2004.

MUTITU, E. K.; GARNAS, J. R.; HURLEY, B. P.; WINGFIELD, M. J.; HARNEY, M., BUSH; S. J., SLIPPERS, B. Biology and rearing of *Cleruchoidea noackae* (Hymenoptera: Mymaridae), an egg parasitoid for the biological control of *Thaumastocoris peregrinus* (Hemiptera: Thaumastocoridae). **Journal of Economic Entomology**, v. 106, n. 5, p. 1979–1985, 2013.

NADEL, R. L.; NOACK, A. E. Current understanding of the biology of *Thaumastocoris peregrinus* in the quest for a management strategy. **International Journal of Pest Management**, v. 58, n. 3, p. 257–266, 2012.

PASTORI, P. L., ZANUNCIO, J. C., PEREIRA, F. F., PRATISSOLI, D., CECON, P. R., SERRÃO, J. E. Temperatura e tempo de refrigeração de pupas de *Anticarsia gemmatilis* (Lepidoptera: Noctuidae) afetam parâmetros biológicos de *Trichospilus diatraeae* (Hymenoptera: Eulophidae) **Semina: Ciências Agrárias**, v. 34, n. 4, p. 1493–1508, 2013.

PEVERIERI, S. G.; FURLAN, P.; BENASSAI, D.; STRONG, W. B.; ROVERSI, P. F. Long-term storage of eggs of *Leptoglossus occidentalis* for the mass-rearing of its parasitoid *Gryon pennsylvanicum*. **BioControl**, v. 60, n. 3, p. 293–306, 2015.

PRATISSOLI, D.; VIANNA, U. R.; OLIVEIRA, H. N.; PREIRA, F. F. Efeito do armazenamento de ovos de *Anagasta kuehniella* (Lep.: Pyralidae) nas características biológicas de três espécies de *Trichogramma* (Hym.: Trichogrammatidae). **Revista Ceres**, v. 50, n. 287, p. 95–105, 2003.

QUEIROZ, A. P.; BUENO, A. F.; POMARI-FERNANDES, A.; et al. Low temperature storage of *Telenomus remus* (Nixon) (Hymenoptera: Platygasteridae) and its factitious host *Corcyra cephalonica* (Stainton) (Lepidoptera: Pyralidae). **Neotropical Entomology**, v. 46, n. 2, p. 182–192, 2017.

SPINOLA-FILHO, C. P. R. DE; LEITE, D. G. L.; SOARES, M. A. Effects of duration of cold storage of host eggs on percent parasitism and adult emergence of each of ten Trichogrammatidae (Hymenoptera) species. **Florida Entomologist**, v. 97, n. 1, p. 14–21, 2014.

ST-ONGE, M.; CORMIER, D.; TODOROVA, S.; LUCAS, E. Conservation of *Ephesia kuehniella* eggs as hosts for *Trichogramma ostrinae*. **Journal of Applied Entomology**, v. 140, n. 3, p. 218–222, 2016.

STEENBURGH, W. E. VAN. *Trichogramma Minutum* Riley as a parasite of the oriental fruit moth (*Laspeyresia Molesta* Busck.) in Ontario. **Canadian Journal of Research**, v. 10, n. 3, p. 287–314, 1934.

WANG, Z. Y.; HE, K. L.; ZHANG, F.; LU, X.; BABENDREIER, D. Mass rearing and release of *Trichogramma* for biological control of insect pests of corn in China. **Biological Control**, v. 68, n. 1, p. 136–144, 2014.

YAN, Z.; YUE, J. J. J.; BAI, C.; PENG, Z. Q. Q.; ZHANG, C. H. H. Effects of cold storage on the biological characteristics of *Microplitis prodeniae* (Hymenoptera: Braconidae). **Bulletin of Entomological Research**, , n. May, p. 1–7, 2017.

4. CAPÍTULO II - ARMAZENAMENTO EM DIFERENTES PERÍODOS DE *Cleruchoides noackae* LIN E HUBER (HYMENOPTERA: MYMARIDAE) EM OVOS DE *Thaumastocoris peregrinus* CARPINTEIRO E DELLAPÉ (HEMIPTERA: THAUMASTOCORIDAE) A 5°C

RESUMO

A utilização de parasitoides em programas de controle biológico exige a liberação de um grande número de insetos a campo. O armazenamento em baixa temperatura da fase jovem do parasitoide é uma alternativa para concentrar a emergência dos insetos em um determinado período, proporcionando maior flexibilidade para envio e liberação dos insetos a campo. Neste estudo, o efeito do armazenamento em baixa temperatura de ovos de *T. peregrinus* parasitados foi analisado para diferentes períodos da fase jovem de *C. noackae*. Ovos de *T. peregrinus* foram ofertados a casais de *C. noackae* por 24 h e armazenados por 7 dias a 5 °C com 0 (controle), 3, 6, 9 e 12 dias após o parasitismo. Após determinar a melhor fase de desenvolvimento do inseto a ser armazenado (6 dias), a mesma foi utilizada para armazenar o parasitoide por 0 (controle), 7, 14 e 21 dias. A emergência dos parasitoides originários dos ovos armazenados 6 dias após o parasitismo não diferenciou da testemunha e foi superior aos demais tratamentos. Também não houve diferença entre a razão sexual e o número de adultos retidos. Após 7 dias do armazenamento do parasitoide, a 5 °C, houve redução na emergência, tornando viável armazenar *C. noackae* nestas condições.

Palavra-chave: Controle biológico; parasitoide de ovos; percevejo bronzeado; baixas temperaturas.

CHAPTER II - STORAGE IN DIFFERENTS PERIODS OF *Cleruchoides noackae* LIN & HUBER (HYMENOPTERA: MYMARIDAE) ON *Thaumastocoris peregrinus* CARPINTEIRO AND DELLAPÉ (HEMIPTERA: THAUMASTOCORIDAE) EGGS AT 5 °C

ABSTRACT

The use of parasitoids in biological control programs requires the release of a large number of insects in the field. The low temperature storage of the immature phase of the parasitoid is an alternative to concentrate the emergence of the insects in a certain period, providing greater flexibility for sending and releasing the insects in the field. The objective of this study was to storage at low temperature of *T. peregrinus* eggs parasitized to analyse different periods of immature phase of *C. noackae*. *T. peregrinus* eggs were offered to females of *C. noackae* for 24 h and stored during 7 days at 5 °C with 0 (control), 3, 6, 9 and 12 days after parasitism. After determining the best development stage (6 days), it was used to store the parasitoid for 0 (control), 7, 14 and 21 days. The emergence of the stored insects 6 days after the parasitism did not differ from the control and was superior to the other treatments. There was no difference among sex ratio and retained insects. After 7 days of parasitoid storage, at 5 °C there was a reduction in the parasitoids emergence, making it impossible to store *C. noackae* in this conditions.

Key words: Biological control; egg parasitoid; bronze bug; low temperatures

4.1 INTRODUÇÃO

Os parasitóides são importantes agentes de controle biológico devido à sua capacidade de suprimir as populações de pragas (YAN et al., 2017), porém, suprir a demanda constante, exigida pelo mercado, com inimigos naturais com qualidade é um dos principais obstáculos em programas de controle biológico (COUDRON et al., 2007; ST-ONGE et al., 2016; QUEIROZ et al., 2017).

O parasitoide solitário de ovos *C. noackae* Lin e Huber (Hymenoptera: Mymaridae) é o principal agente de controle biológico de *Thaumastocoris peregrinus* Carpinteiro e Dellapé (Hemiptera: Thaumastocoridae), inseto praga que causa grandes perdas na eucaliptocultura (LIN et al., 2007; NADEL; NOACK, 2012). A longevidade de adultos de *C. noackae* é em média de 1,2 dias quando não alimentados e 3,7 dias quando alimentados com mel (SOUZA et al., 2016). Devido à curta longevidade, esse parasitoide precisa ser liberado a campo logo após a sua emergência, exigindo grande quantidade de insetos em um curto intervalo de tempo. Desta forma, a criação de inimigos naturais em grande quantidade é necessária pouco tempo antes da liberação a campo (COLINET; BOIVIN, 2011).

Portanto, são necessárias técnicas que aumentem a vida útil dos insetos, possibilitem a produção ao longo de vários meses, disponibilizem um número estável e suficiente de inimigos naturais e que reduzam custos em programas de controle biológico (COLINET; BOIVIN, 2011; ALAM et al., 2016). Dentre elas, técnicas de armazenamento de insetos em baixas temperaturas apresentam essas características, sendo uma alternativa para auxiliar na criação massal de insetos benéficos (LEOPOLD, 1998; LENTEREN et al., 2003; COLINET; BOIVIN, 2011).

A exposição a baixas temperaturas reduz a atividade metabólica do inseto, induzindo à dormência, o que permite o armazenamento durante determinado período de tempo e assim aumentando o período de prateleira do parasitoide (LEOPOLD, 1998). No entanto, longos períodos de exposição a baixas temperaturas podem causar perdas no desempenho do inseto (COLINET; BOIVIN, 2011), como observado para *Gonatocerus ashmeadi*

Girault (Hymenoptera: Mymaridae) (CHEN et al., 2008), *Microplitis prodeniae* Rao e Chandry (Hymenoptera: Braconidae) (YAN et al., 2017), *Bracon hebetor* Say (Hymenoptera: Braconidae) (ALAM et al., 2016; ANWAR et al., 2016), *Praon volucre* Haliday (Hymenoptera: Braconidae) (LINS et al., 2013), *Aphidius matricariae* Haliday (Hymenoptera: Aphidiidae) (AL-ANTARY; ABDEL-WALI, 2016), *Encarsia sophia* Girault e Dodd (Hymenoptera: Aphelinidae) (KIDANE et al., 2015).

Determinar o período em que a fase jovem do inseto é submetido à baixa temperatura é fundamental para minimizar perdas no seu desempenho, o que possibilita maiores períodos de armazenamento (FOERSTER et al., 2004; ANWAR et al., 2016).

A exposição do inseto por longos períodos de armazenamento pode causar redução na emergência, longevidade e capacidade reprodutiva dos parasitoides (LEOPOLD, 1998; PITCHER et al., 2002; FOERSTER; NAKAMA, 2002; LEVIE et al., 2005), desta forma, o estudo da progênie oriunda dos insetos armazenados é importante para garantir eficiência em programas de controle biológico.

Com isso, o objetivo do trabalho foi definir o melhor período após o parasitismo e duração para o armazenamento a 5 °C de ovos de *T. peregrinus* parasitados por *C. noackae*

4.2 MATERIAL E MÉTODOS

O estudo foi realizado no laboratório de Entomologia da Embrapa Florestas, Colombo, estado do Paraná, Brasil.

4.2.1 CRIAÇÃO MASSAL DE *T. peregrinus*

O percevejo bronzeado foi criado em sala climatizada (22 ± 2 °C, 50 ± 10% de HR e fotofase de 12 horas), sobre ramos de *Eucalyptus benthamii*

Maidan e Cambage. Os ramos foram envoltos por uma tira de espuma de 15 cm e colocados dentro de um frasco Erlenmeyer de 500 mL com água. Após o inseto se alimentar desses ramos, um novo buquê de ramos era encostado no antigo para que o inseto migrasse para as novas folhas em busca de alimento. Tiras de papel toalha dispostas sobre os ramos de eucalipto foram utilizadas para realização das posturas e coleta diária dos ovos; uma parte dos ovos foi armazenada a 5 °C para manter a criação massal de *C. noackae* e o restante foi utilizado nos experimentos que exigiam ovos frescos de *T. peregrinus*.

4.2.2 CRIAÇÃO MASSAL DE *C. noackae*

A criação de *C. noackae* foi iniciada com indivíduos introduzidos da Austrália em 2012.

O parasitoide foi criado em ovos de *T. peregrinus* mantidos em frascos de poliestireno de 7,0 cm de comprimento e 3,0 cm de diâmetro e alimentados com solução de mel 50% ofertada em tiras de papel filtro em sala climatizada a 24 ± 2 °C, $60 \pm 10\%$ de HR e fotofase de 12 horas.

4.2.3 ARMAZENAMENTO A 5 °C DE DIFERENTES FASES DE DESENVOLVIMENTO DE *C. noackae*

Ovos de *T. peregrinus* (<24 h idade) foram ofertados a um casal de *C. noackae* (<24 h vida) em frascos de poliestireno (7,0 cm de comprimento e 3,0 cm de diâmetro) durante 24 horas, e mantidos em sala climatizada (24 ± 2 °C, UR 60% e fotofase de 12 horas) por 0 (controle não armazenado), 3, 6, 9 e 12 dias. Em seguida, os ovos parasitados, foram armazenados em câmara climatizada (5 ± 2 °C, UR 60% no escuro), por 7 dias. Após estes períodos, os ovos foram transferidos para sala climatizada (24 ± 2 °C, UR 60% e fotofase de 12 horas). Solução de mel a 50% ofertada em tiras de papel filtro (0,5 cm x 5 cm) foi utilizada para alimentação dos parasitoides. Neste teste foram utilizadas 15 repetições, cada uma com 10 ovos por tempo após o parasitismo.

Para os casais de *C. noackae* emergidos das diferentes fases de desenvolvimento armazenada foram ofertados ovos de *T. peregrinus* (<24 h idade) por 24 horas para avaliar a capacidade de parasitismo dos insetos estocados a baixa temperatura. A avaliação da geração F2 foi realizada apenas com adultos oriundos do armazenamento de sua fase jovem por 3, 6, e 9 dias, devido ao baixo número de parasitoides emergidos no período de 12 dias de armazenamento.

4.2.4 PARÂMETROS AVALIADOS

Para a geração F1 foram avaliadas a porcentagem de parasitoides emergidos, não emergidos (adultos retidos nos ovos) e a razão sexual ($RS = N^{\circ}\text{♀} / N^{\circ}\text{♂} + N^{\circ}\text{♀}$) de *C. noackae*. Para a geração F2 foram avaliados a duração do período de desenvolvimento (ovo-adulto), o total de parasitoides (emergidos e não emergidos), e os mesmos parâmetros avaliados na geração F1 exceto o período para emergência após o armazenamento de *C. noackae*.

4.2.5 ARMAZENAMENTO DE *C. noackae* A 5°C POR DIFERENTES PERÍODOS

Ovos de *T. peregrinus* (< 24h idade) coletados em tiras de papel toalha foram ofertados em frascos de poliestireno (7,0 cm de comprimento e 3,0 cm de diâmetro) durante 24 horas a um casal de *C. noackae* (< 24h idade) e mantidos em sala climatizada (24 ± 2 °C, UR 60% e fotofase de 12 h) por 6 dias. Tiras de papel filtro (0,5 cm x 5 cm) umedecidas em solução de mel a 50% foram utilizadas para alimentação dos parasitoides. Em seguida os ovos foram armazenados em câmara climatizada (5 ± 2 °C, UR 60%, no escuro) por, 0 (controle), 7, 14 e 21 dias. Após o armazenamento, os ovos foram transferidos para sala climatizada (24 ± 2 °C, UR 60% e fotofase de 12 horas) para avaliar a emergência dos adultos. Para esse teste foram utilizadas 20

repetições com 10 ovos. A avaliação da geração F2 foi realizada apenas com adultos oriundos do armazenamento de 7 dias, devido ao baixo número de parasitoides emergidos em 14 e 21 dias. Aos casais emergidos do tratamento foram ofertados ovos de *T. peregrinus* (<24 h idade) por 24 horas para avaliar a capacidade de parasitismo dos insetos estocados a baixa temperatura. Para essa avaliação foram utilizadas 15 repetições com 10 ovos.

4.2.6 PARÂMETROS AVALIADOS

Para a geração F1 avaliaram-se a porcentagem de parasitoides emergidos, não emergidos (adultos retidos nos ovos), o total de parasitoides (emergidos e não emergidos), a razão sexual ($RS = N^{\circ}\text{fêmea} / N^{\circ}\text{macho} + N^{\circ}\text{fêmea}$) e o período para a emergência dos adultos após o armazenamento por diferentes períodos. Para a geração F2 foram avaliados a duração do período de desenvolvimento (ovo-adulto) e os mesmos parâmetros da geração F1 exceto o período para emergência após o armazenamento por diferentes períodos.

4.2.7 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os dados do experimento foram submetidos a análise de desvio para o modelo que considerou o efeito dos tratamentos. Os dados de contagem foram analisados por modelos lineares generalizados (GLM) com distribuição de Poisson. A distribuição Quasi foi adotada para a razão sexual e o período de desenvolvimento. As comparações entre os tratamentos foram feitas pelo teste de diferença honestamente significativa (HSD) de Tukey ($P < 0,05$). A análise estatística foi feita utilizando R language, versão 3.3.2 (R Core Team, 2016).

4.3 RESULTADOS

4.3.1 ARMAZENAMENTO A 5°C DE DIFERENTES FASES DE DESENVOLVIMENTO DE *C. noackae*

A emergência de *C. noackae* em ovos de *T. peregrinus* ocorreu após seu armazenamento nas diferentes fases de desenvolvimento por 7 dias a 5 ± 2 °C. Entretanto, a porcentagem de emergência para parasitoides não armazenados (controle) foi semelhante a parasitoides armazenados com 6 dias de desenvolvimento e superior aos armazenados com 3, 9 e 12 dias de desenvolvimento ($X^2= 39,838$; $df= 4;70$; $P< 0,0001$). Não houve efeito significativo do armazenamento de diferentes fases na porcentagem de insetos retidos ($X^2=3.7637$; $df= 4;70$; $P= 0.4389$) e razão sexual ($X^2= 2054,9$; $df= 4;45$; $P= 0,4584$) em ovos de *T. peregrinus* armazenados e não armazenados ($X^2= 3,7637$; $df= 4;95$ $P= 0.4389$) (Tabela 6). O período de desenvolvimento da fase jovem do parasitoide para todos os tratamentos foi em média 15,49 dias desconsiderado o período de armazenamento de 7 dias a 5°C;

Tabela 6. Adultos retidos (Ret.), emergência (Emer.) e razão sexual (RS.) da geração F1 de *Cleruchoides noackae* (Hymenoptera: Mymaridae) (Média \pm EP) armazenados em diferentes períodos de desenvolvimento da fase jovem em ovos de *Thaumastocoris peregrinus* (Hemiptera: Thaumastocoridae) a 5 ± 2 °C.

Desenvolvimento após parasitismo (dias)	Ret. (%)	Emer. (%)	RS (%)
0	2,00 \pm 0,35	47,33 \pm 1,83 a	72,74 \pm 3,35
3	3,33 \pm 0,81	25,33 \pm 3,79 b	60,06 \pm 10,65
6	2,00 \pm 0,55	37,33 \pm 4,03 ab	59,96 \pm 5,00
9	3,33 \pm 0,81	26,67 \pm 4,07 b	62,59 \pm 8,24
12	0,67 \pm 0,34	11,33 \pm 2,43 c	54,17 \pm 16,91

Médias seguidas da mesma letra na coluna não diferem entre si (Tukey, $P<0,05$).

A progênie F1 oriunda dos ovos armazenados com diferentes idades de desenvolvimento, parasitou os ovos ofertados de *T. peregrinus*, originando a progênie F2. A porcentagem de parasitismo da progênie de insetos não armazenados (controle) foi semelhante à progênie F2 dos parasitoides armazenados com 3 e 6 dias de desenvolvimento e superior aos armazenados com 9 dias, ($X^2= 53,481$; $df= 3;36$ $P< 0,0001$), sendo que o mesmo ocorreu

para a porcentagem de emergência ($X^2= 54,768$; $df= 4;45$ $P< 0,001$) (Tabela 07).

A porcentagem de adultos retidos ($X^2= 3,488$; $df= 2;36$ $P= 32,23$), a razão sexual ($X^2= 1,2264$; $df= 3;27$; $P= 0,5416$) e o período de desenvolvimento (ovo-adulto) ($X^2= 0,0120$; $df= 2;27$ $P= 0,9974$) da progênie (F2) não foram afetados pelo armazenamento nos diferentes períodos de desenvolvimento da fase jovem de *C. noackae* (Tabela 7).

Tabela 7. Adultos retidos (Ret.), emergência (Emer.), parasitismo (Par.), razão sexual (RS.), período de desenvolvimento (ovo – adulto) (Per.) (24 ± 2 °C, UR 60% e fotofase 12 h) da geração F2 de *Cleruchoides noackae* (Hymenoptera: Mymaridae) (Média \pm EP) após armazenamento em diferentes períodos de desenvolvimento da fase jovem em ovos de *Thaumastocoris peregrinus* (Hemiptera: Thaumastocoridae) a 5 ± 2 °C.

Desenvolvimento após parasitismo (dias)	Ret. (%)	Emer. (%)	Par. (%)	RS (%)	Per. (dias)
0	2,00 \pm 1,33	60,00 \pm 5,58 a	62,00 \pm 5,54 a	70,71 \pm 3,83	15,52 \pm 0,19
3	5,00 \pm 2,69	43,00 \pm 3,96 a	48,00 \pm 3,27 a	60,00 \pm 8,88	15,49 \pm 0,14
6	6,00 \pm 2,67	54,00 \pm 7,63 a	60,00 \pm 7,60 a	59,64 \pm 10,41	15,85 \pm 0,23
9	2,00 \pm 1,33	7,00 \pm 4,96 b	9,00 \pm 5,04 b		

Médias seguidas da mesma letra nas colunas não diferem entre si pelo teste de (Tukey, $P<0,05$).

4.3.2 ARMAZENAMENTO A 5°C DE *C. noackae* POR DIFERENTES PERÍODOS

Parasitoides de *C. noackae* com 6 dias de desenvolvimento emergiram quando armazenados a 5 °C por até 21 dias. A porcentagem de emergência de parasitoides não armazenados foi semelhante a parasitoides armazenados por 7 dias, os quais foram superiores aos armazenados por 14 e 21 dias ($X^2= 149,23$; $df= 3;76$; $P< 0,0001$) (Figura 03).

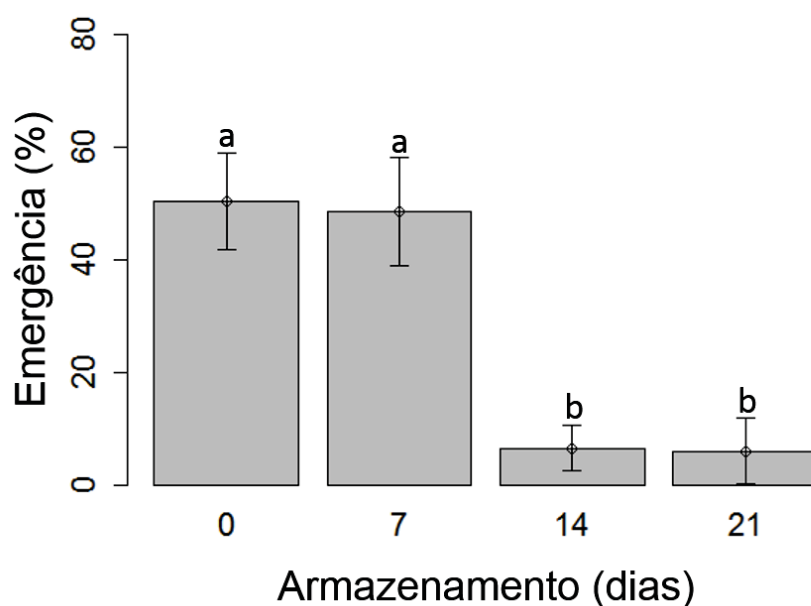


Figura 3. Emergência (média \pm 95% intervalo de confiança) de *Cleruchoides noackae* (Hymenoptera: Mymaridae) em ovos de *Thaumastocoris peregrinus* (Hemiptera: Thaumastocoridae) armazenados a 5 ± 2 °C 6 dias após o parasitismo. Barras com letras diferentes, por parâmetro, diferem pelo teste de Tukey ($P < 0,05$).

O armazenamento de insetos a 5 ± 2 °C da fase jovem de *C. noackae* não afetou a porcentagem de insetos retidos ($X^2 = 5,1785$; $df = 3;76$; $P = 0,1592$), razão sexual ($X^2 = 2684$; $df = 3;48$; $P = 3067$) e tempo de emergência dos adultos ($X^2 = 0,0156$; $df = 3;50$; $P = 0,0982$) não foram afetados pelo armazenamento a 5 ± 2 °C da fase jovem de *C. noackae* (Tabela 08).

Tabela 8. Adultos retidos (Ret.), razão sexual (RS.) e emergência após o armazenamento (EAA) (24 ± 2 °C, UR 60% e fotofase 12 h) da geração F1 de *Cleruchoides noackae* (Hymenoptera: Mymaridae) (Média \pm EP) em relação ao armazenamento por diferentes períodos 6 dias após o parasitismo em ovos de *Thaumastocoris peregrinus* (Hemiptera: Thaumastocoridae) a 5 ± 2 °C.

Armazenamento (dias)	Ret. (%)	RS (%)	EAA (dias)
0	5,00 \pm 1,36	65,10 \pm 3,17	9,32 \pm 0,06
7	2,00 \pm 0,92	67,27 \pm 3,31	9,34 \pm 0,11
14	2,00 \pm 0,92	55,56 \pm 15,71	9,52 \pm 0,19
21	1,50 \pm 0,82	44,00 \pm 23,15	9,88 \pm 0,12

Médias seguidas da mesma letra na coluna não diferem entre si (Tukey, $P < 0,05$).

A progênie F1, oriunda de parasitoides armazenados por 7 dias, parasitaram os ovos de *T. peregrinus* ofertados, originando a progênie F2, a qual não apresentou diferença em relação à testemunha não armazenada para os seguintes parâmetros: porcentagem total de parasitismo ($X^2= 0,16073$; $df= 1:38$; $P= 0,6885$), parasitoides emergidos ($X^2= 0,0047$; $df= 1:38$; $P= 0,945$), adultos retidos ($X^2= 2,35$; $df= 1:38$; $P= 0,1246$), razão sexual ($X^2= 22,779$; $df= 1:38$; $P= 0,8136$) e período de desenvolvimento ($X^2= 0,0003$; $df= 1:38$; $P= 0,9849$) (Tabela 09).

Tabela 9. Adultos retidos (Ret.), emergência (Emer.), parasitismo (Par.), razão sexual (RS.), período de desenvolvimento (ovo – adulto) (Per.) (24 ± 2 °C, UR 60% e fotofase 12 h) da geração F2 de *Cleruchoidea noackae* (Hymenoptera: Mymaridae) (Média \pm EP) em relação a diferentes períodos de armazenamento 6 dias após o parasitismo em ovos de *Thaumastocoris peregrinus* (Hemiptera: Thaumastocoridae) a 5 ± 2 °C.

Armazenamento (dias)	Ret. (%)	Emer. (%)	Par. (%)	RS (%)	Per. (dias)
0	4,00 \pm 1,12	53,50 \pm 4,99	57,50 \pm 5,02	63,20 \pm 3,32	15,33 \pm 0,07
7	1,50 \pm 0,82	53,00 \pm 4,93	54,50 \pm 4,78	64,70 \pm 5,48	15,46 \pm 0,05

Médias seguidas da mesma letra na coluna não diferem entre si (Tukey, $P<0,05$).

4.4 DISCUSSÃO

4.4.1 ARMAZENAMENTO A 5°C DE DIFERENTES FASES DE DESENVOLVIMENTO DE *C. noackae*

Com o aumento do período de armazenamento após o parasitismo, houve um aumento na mortalidade dos parasitoides antes da emergência. A fase jovem do parasitoide pode ser armazenada 6 dias após o parasitismo em ovos de *T. peregrinus*, por um período de 7 dias a 5 °C sem efeitos prejudiciais sobre a emergência dos adultos. Fases de desenvolvimento mais tardias do parasitoide foram mais sensíveis à exposição a baixa temperatura.

Relatos semelhantes foram descritos para *Mastrus ridens* Horstmann (Hymenoptera: Ichneumonidae) que, armazenado a 4 °C, teve maior taxa de mortalidade nas fases mais tardias de desenvolvimento, sendo as fases mais novas as mais tolerantes ao armazenamento (SANDANAYAKA et al., 2015). Para *Diaeretiella rapae* McIntosh (Hymenoptera: Braconidae) armazenados a 5°C, houve alta taxa de mortalidade nas fases tardias da pupa quando o período de armazenamento foi estendido (SILVA et al., 2013).

Com base nos dados coletados das fases de desenvolvimento, o armazenamento não teve efeito negativo na reprodução dos adultos emergidos de *C. noackae* quando armazenados a 5 °C com três e seis dias, dando origem à progênie F2, os quais foram semelhantes à progênie oriunda de insetos não armazenados. Quando armazenada a fase jovem com nove dias houve diminuição na emergência do parasitoide indicando uma redução na capacidade reprodutiva do inseto.

Os resultados obtidos no período de emergência após o armazenamento indicam que as condições em que os insetos foram submetidos por um curto período (7 dias) induziram os parasitoides ao estado de dormência, conhecido como quiescência, que é resultado da redução das atividades metabólicas do inseto. Assim, quando removidos dessas condições, o inseto retorna seu comportamento e desenvolvimento normalmente (LEOPOLD, 1998).

4.4.2 ARMAZENAMENTO DE *C. noackae* A 5°C POR DIFERENTES PERÍODOS

É possível estender o período de desenvolvimento para posterior emergência do parasitoide, uma vez que obtivemos as melhores porcentagens de emergência com o armazenamento do parasitoide por 7 dias a 5 °C. Essa flexibilidade que o armazenamento proporciona é essencial para o envio e liberação dos parasitoides a campo (YAN et al., 2017).

Com o aumento do período de armazenamento houve redução na emergência dos parasitoides; resultados semelhantes foram observados com

Gonatocerus ashmeadi Girault (Hymenoptera: Mymaridae) (CHEN et al., 2008), *Microplitis prodeniae* (Hymenoptera: Braconidae) (YAN et al., 2017) e *Bracon hebetor* Say (Hymenoptera: Braconidae) (ALAM et al., 2016; ANWAR et al., 2016). Essa redução pode ser consequência do consumo de reservas energéticas, uma vez que a rápida exposição ao frio não proporciona condições para que o inseto acumule reservas suficientes para sobreviver, ou por ocorrer acúmulo de metabólitos tóxicos durante o período de dormência. Esses fatores causam altas taxas de mortalidade ou redução no desempenho após a emergência dos adultos (SINCLAIR et al., 2003; HAHN; DENLINGER, 2007).

A razão sexual dos adultos não foi significativamente afetada pelo armazenamento a frio, mostrando que a mortalidade não ocorreu com base no sexo dos insetos. Esta informação é importante para o programa de controle biológico de *T. peregrinus*, pois a partenogênese de *C. noackae* é arrenótoca (MUTITU et al., 2013), característica comum em mimarídeos no qual fêmeas não acasaladas dão origem apenas a machos haploides e quando acasaladas originam machos e fêmeas (JERVIS et al., 2001).

O período de emergência após o armazenamento indica que as condições de armazenamento induziram o inseto a entrar no estado de dormência, a qual é manifestada pela redução da atividade e desenvolvimento, utilizada por organismos para suportar condições ambientais adversas como baixa temperatura, retornando à atividade normal quando as condições adversas terminam (TAUBER et al., 1986).

O período de desenvolvimento de *C. noackae* a 24 °C do ovo ao adulto é de aproximadamente 15 dias (MUTITU et al., 2013). Neste estudo a maioria dos parasitoides emergiram 9 dias após o armazenamento, completando o ciclo em aproximadamente 15 dias quando desconsiderado o período de armazenamento. Respondendo de forma imediata à retomada do desenvolvimento após o armazenamento. Esses resultados são semelhantes a outros estudos com parasitoides (RUNDLE et al., 2004; YAN et al., 2017). Esse período de emergência dos adultos após o armazenamento é importante para gerenciar a criação massal, uma vez que o tempo de desenvolvimento foi prolongado.

A progênie F2 oriunda de insetos armazenados durante 7 dias não afetou os parâmetros de desenvolvimento e reprodução, possibilitando o armazenamento, com segurança, da fase jovem de *C. noackae* por este período.

4.5 CONCLUSÕES

É possível armazenar por 7 dias a 5 °C a fase jovem de *C. noackae* seis dias após o parasitismo em ovos de *T. peregrinus*, sem afetar o desempenho e reprodução dos parasitoides, permitindo a utilização dessa técnica para criação massal e posterior liberação a campo de *C. noackae*.

Com o armazenamento por 7 dias a 5 °C foi possível aumentar de 15 para 22 dias o ciclo da fase jovem do parasitoide o que proporciona maior flexibilidade no planejamento para a criação massal de *C. noackae*.

REFERÊNCIAS

AL-ANTARY, T. M.; ABDEL-WALI, M. I. Advances in environmental biology response of the parasitoid, *Aphidius matricariae* Haliday (Hymenoptera: Aphidiidae) mummy to cold storage. **Advances in Environmental Biology**, v. 10, n. 11, p. 124–130, 2016.

ALAM, M.; ALAM, M.; ALAM, S.; MIAH, M.; MIAN, M. Effect of storage duration on the stored pupae of parasitoid *Bracon hebetor* (Say) and its impact on parasitoid quality. **Bangladesh Journal of Agricultural Research**, v. 41, n. 2, p. 297, 2016.

CHEN, W. L.; LEOPOLD, R. A.; HARRIS, M. O. Cold storage effects on maternal and progeny quality of *Gonatocerus ashmeadi* Girault (Hymenoptera: Mymaridae). **Biological Control**, v. 46, n. 2, p. 122–132, 2008.

COLINET, H.; BOIVIN, G. Insect parasitoids cold storage: A comprehensive review of factors of variability and consequences. **Biological Control**, v. 58, n. 2, p. 83–95, 2011.

COLINET, H.; HANCE, T. Interspecific variation in the response to low temperature storage in different aphid parasitoids. **Annals of Applied Biology**, v. 156, n. 1, p. 147–156, 2010.

COUDRON, T. A.; ELLERSIECK, M. R.; SHELBY, K. S. Influence of diet on long-term cold storage of the predator *Podisus maculiventris* (Say) (Heteroptera: Pentatomidae). **Biological Control**, v. 42, n. 2, p. 186–195, 2007.

FOERSTER, L. A.; DOETZER, A. K.; CASTRO, L. C. F. DE. Emergence, longevity and fecundity of *Trissolcus basalis* and *Telenomus podisi* after cold storage in the pupal stage. **Pesquisa Agropecuaria Brasileira**, v. 39, n. 9, p. 841–845, 2004. Embrapa Informação Tecnológica.

FOERSTER, L. A.; NAKAMA, P. A. Efeito da estocagem em baixa temperatura na capacidade reprodutiva e longevidade de *Trissolcus basalis* (Wollaston) e *Telenomus podisi* Ashmead (Hymenoptera: Scelionidae). **Neotropical Entomology**, v. 31, n. 1, p. 115–120, 2002.

HAHN, D. A.; DENLINGER, D. L. Meeting the energetic demands of insect diapause: Nutrient storage and utilization. **Journal of Insect Physiology**, v. 53, n. 8, p. 760–773, 2007.

HUETTEL, M. D. Monitoring the quality of laboratory-reared insects: a biological and behavioral perspective. **Environmental Entomology**, v. 5, n. 5, p. 807–814, 1976. Oxford University Press.

JERVIS, M. A.; HEIMPEL, G. E.; FERNS, P. N.; HARVEY, J. A.; KIDD, N. A. C. Life-history strategies in parasitoid wasps: A comparative analysis of “ovigeny.” **Journal of Animal Ecology**, v. 70, n. 3, p. 442–458, 2001.

KIDANE, D.; YANG, N. W.; WAN, F. H. Effect of cold storage on the biological fitness of *Encarsia sophia* (Hymenoptera: Aphelinidae), a parasitoid of *Bemisia tabaci* (Hemiptera: Aleyrodidae). **European Journal of Entomology**, v. 112, n. 3, p. 460–469, 2015.

LENTEREN, J. C. VAN; HALE, A.; KLAPWIJK, J. N.; SCHELT, J. VAN;

STEINBERG, S. Guidelines for quality control of commercially produced natural enemies. **Quality control and production of biological control agents theory and testing procedures**. p.265–304, 2003.

LEOPOLD, R. A. Cold storage of insects for Integrated Pest Management. **Temperature Sensitivity in Insects and Application in Integrated Pest Management**, n. Ferguson 1990, p. 235–267, 1998.

LEVIE, A.; VERNON, P.; HANCE, T. Consequences of acclimation on survival and reproductive capacities of cold-stored mummies of *Aphidius rhopalosiphii* (Hymenoptera: Aphidiinae). **Journal of Economic Entomology**, v. 98, n. 3, p. 704–708, 2005.

LIN, N. Q.; HUBER, J. T.; SALLE, J. LA. The Australian genera of Mymaridae (Hymenoptera: Chalcidoidea). **Zootaxa** 1596: 1-111.2007.

LINS, J. C.; BUENO, V. H. P.; SIDNEY, L. A. Cold storage affects mortality, body mass, lifespan, reproduction and flight capacity of *Praon volucre* (Hymenoptera: Braconidae). **European Journal of Entomology**, v. 110, n. 2, p. 263–270, 2013.

MUTITU, E. K.; GARNAS, J. R.; HURLEY, B. P.; WINGFIELD, M. J.; HARNEY, M.; BUSH, S. J.; SLIPPERS, B. Biology and rearing of *Cleruchoides noackae* (Hymenoptera: Mymaridae), an egg parasitoid for the biological control of *Thaumastocoris peregrinus* (Hemiptera: Thaumastocoridae). **Journal of Economic Entomology**, v. 106, n. 5, p. 1979–1985, 2013.

NADEL, R. L.; NOACK, A. E. Current understanding of the biology of *Thaumastocoris peregrinus* in the quest for a management strategy. **International Journal of Pest Management**, v. 58, n. 3, p. 257–266, 2012.

PITCHER, S. A.; HOFFMANN, M. P.; GARDNER, J.; WRIGHT, M. G.; KUCHAR, T. P. Cold storage of *Trichogramma ostriniae* reared on *Sitotroga cerealella* eggs. **BioControl**, v. 47, n. 5, p. 525–535, 2002.

QUEIROZ, A. P.; BUENO, A. F.; POMARI-FERNANDES, A.; GRANDE, M. L. M.; BORTOLOTO, O. C.; SILVA, D. M. Low temperature storage of *Telenomus remus* (Nixon) (Hymenoptera: Platygasteridae) and its factitious host *Corcyra cephalonica* (Stainton) (Lepidoptera: Pyralidae). **Neotropical Entomology**, v. 46, n. 2, p. 182–192, 2017.

RUNDLE, B. J.; THOMSON, L. J.; HOFFMANN, A. A. Effects of cold storage on field and laboratory performance of *Trichogramma carverae* (Hymenoptera: Trichogrammatidae) and the response of three *Trichogramma* spp. (*T. carverae*, *T. nr. brassicae*, and *T. funiculatum*) to cold.. **Journal of Economic Entomology**, v. 97, n. 2, p. 213–221, 2004.

SILVA, R. J., CIVIDANES, F. J., PEDROSO, E. C., BARBOSA, J. C., MATTA, D. H., CORREIA, E. T., & OTUKA, A. K. Effect of Low-temperature storage on *Diaeretiella rapae* (McIntosh) (Hymenoptera: Braconidae). **Neotropical Entomology**, v. 42, n. 5, p. 527–533, 2013.

SINCLAIR, B. J.; VERNON, P.; KLOK, C. J.; CHOWN, S. L. Insects at low temperatures: An ecological perspective. **Trends in Ecology and Evolution**, v. 18, n. 5, p. 257–262, 2003.

SOUZA, A. R. D., CANDELARIA, M. C., BARBOSA, L. R., WILCKEN, C. F., CAMPOS, J. M., SERRÃO, J. E., ZANUNCIO, J. C. Longevity of *Cleruchoidea noackae* (Hymenoptera: Mymaridae), an egg parasitoid of *Thaumastocoris peregrinus* (Hemiptera: Thaumastocoridae), with various honey concentrations and at several temperatures. **Floresta Alti**, v. 99, n. 1, p. 33–37, 2016.

SOUZA, G. K., PIKART, T. G., PIKART, F. C., SERRÃO, J. E., WILCKEN, C. F., ZANUNCIO, J. C. First record of a native Heteropteran preying on the introduced *Eucalyptus* Pest, *Thaumastocoris peregrinus* (Hemiptera: Thaumastocoridae), in Brazil. **Florida Entomologist**, v. 95, n. 2, p. 517–520, 2012.

SPINOLA-FILHO, C. P. R. DE; LEITE, D. G. L.; SOARES, M. A. Effects of duration of cold storage of host eggs on percent parasitism and adult emergence of each of ten Trichogrammatidae (Hymenoptera) species. **Florida Entomologist**, v. 97, n. 1, p. 14–21, 2014.

ST-ONGE, M.; CORMIER, D.; TODOROVA, S.; LUCAS, E. Conservation of *Ephestia kuehniella* eggs as hosts for *Trichogramma ostriniae*. **Journal of Applied Entomology**, v. 140, n. 3, p. 218–222, 2016.

TAUBER, M. J.; TAUBER, C. A.; MASAKI, S. **Seasonal adaptations of insects**. Oxford University Press on Demand, 1986.

YAN, Z.; YUE, J. J. J.; BAI, C.; PENG, Z. Q. Q.; ZHANG, C. H. H. Effects of cold storage on the biological characteristics of *Microplitis prodeniae* (Hymenoptera: Braconidae). **Bulletin of Entomological Research**, , n. May, p. 1–7, 2017.

5. CONSIDERAÇÕES FINAIS

O presente estudo demonstrou a viabilidade da técnica de armazenamento de ovos do hospedeiro *Thaumastocoris peregrinus* a 5 °C durante 15 dias. Essa espécie é uma importante praga da eucaliptocultura, e o armazenamento aumenta a oferta de ovos do hospedeiro para a criação massal do parasitoide de ovos *Cleruchoides noackae*, que é o principal agente de controle biológico dessa praga. Com isso, é possível ofertar um número suficiente de hospedeiros para o parasitoide em épocas de surtos da praga e reduzir o desperdício de material biológico em épocas de superprodução de ovos do hospedeiro, pois em condições naturais (sem armazenar) os ovos de *T. peregrinus* são viáveis por até 3 dias para o parasitismo de *C. noackae* e com o armazenamento, esse período é estendido para 15 dias.

Como exemplo prático, sem a utilização do armazenamento do hospedeiro, a produção diária de ovos é de aproximadamente 1 mil ovos de *T. peregrinus*. Considerando um parasitismo de 50% de *C. noackae*, é possível obter aproximadamente 500 parasitoides por dia. Com a utilização do armazenamento (15 dias) é possível obter uma média de 7,5 mil parasitoides com a emergência prevista para um único dia. Isso possibilita atingir quantidades suficientes de *C. noackae* para o envio e liberação a campo.

O armazenamento da fase jovem de *C. noackae* possibilitou o aumento do ciclo jovem do parasitoide de 15 para 22 dias. Com isso, consegue-se um aumento de até sete dias no ciclo de *C. noackae*, possibilitando concentrar um maior número de parasitoides e controlar a emergência dos mesmos, pois após o armazenamento, a emergência ocorre em aproximadamente 9 dias.

Como exemplo prático, utilizando-se mil ovos do hospedeiro por dia a produção em laboratório sem armazenamento do parasitoide, a emergência diária de *C. noackae* é de aproximadamente 500 parasitoides. Com o armazenamento, é possível concentrar essa emergência para que ocorra após 7 dias, aumentando a emergência para 3,5 mil parasitoides em uma única data. Essa característica permite sincronizar a produção do parasitoide com a sua necessidade no campo.

As duas técnicas de armazenamento estudadas podem ser utilizadas em conjunto, proporcionando condições melhores para o planejamento e manutenção da criação massal do parasitoide.

Sendo assim, a utilização das técnicas apresentadas neste trabalho otimizam a criação massal de *C. noackae*, com a redução de custos, mão de obra no laboratório e sincronismo da criação massal do parasitoide com a liberação do mesmo a campo.

Estudos relacionados ao efeito desta técnica na capacidade de reprodução e estabelecimento do parasitoide a campo devem ser realizados.